

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y**  
**PODOLOGÍA**



**TESIS DOCTORAL**

**Efectividad del lavado de manos prequirúrgico  
en la reducción de la carga bacteriana, utilizando  
digluconato de clorhexidina y  
paraclorometaxilenol**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**Laura Martín Aragón**

DIRECTORES

**Ricardo Becerro de Bengoa Vallejo**  
**Davinia Vicente Campos**

Madrid, 2017

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGÍA**



**TESIS DOCTORAL**

**Efectividad del lavado de manos prequirúrgico en la reducción de la carga bacteriana, utilizando digluconato de clorhexidina y paraclorometaxilenol**

Presentada por:

**Laura Martín Aragón**

Directores:

**Dr. Ricardo Becerro de Bengoa Vallejo**

**Dra. Davinia Vicente Campos**

A mis padres.

A Eduardo y Alejandro.

*“Todo hombre puede ser, si se lo propone, escultor de su propio cerebro”*

Santiago Ramón y Cajal

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad Complutense de Madrid, la oportunidad que me ofrece para leer este trabajo de tesis doctoral.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Ricardo de Becerro Bengoa Vallejo por su apoyo incondicional e infinita paciencia, por su gran ayuda en el desarrollo de esta tesis doctoral y su capacidad de transmitir emoción en el apasionante mundo de la investigación y por ser la gran persona que ha demostrado ser.

A la Dra. Davinia Vicente Campos, por su ayuda, consejos y ánimos, por mostrarme otra forma de plantear los hechos.

A esas grandes amistades que siempre me han apoyado, a pesar de las circunstancias, aportando su granito de arena, cada una a su forma, para el desarrollo de la presente investigación.

A mi marido, D. Eduardo Soria, por vivir conmigo esta etapa, por su paciencia y soportar los ratos de mal humor.

A mi hijo, Alejandro Soria, nacido durante la realización de esta investigación, por las horas de juego y atenciones, que este trabajo le ha robado y por enseñarme a crecer como persona.

Y especialmente, a mis padres, D. Luis Martín y D<sup>a</sup> María de los Ángeles Aragón, por fomentar desde mi niñez, la visión crítica y el afán de conocimiento, y por su apoyo y cariño incondicional en todo momento.

Gracias a todos por formar parte de mi vida.

## INDICE

---

	Página
<b>RESUMEN.....</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>16</b>
<b>Antecedentes históricos de la higiene de manos en el cuidado de la salud.....</b>	<b>17</b>
<b>Preparación quirúrgica de manos.....</b>	<b>18</b>
Evidencia de la preparación quirúrgica de manos.....	18
Objetivos de la preparación quirúrgica de manos.....	20
<b>Flora bacteriana normal de las manos.....</b>	<b>21</b>
<b>Fisiología de la piel normal.....</b>	<b>22</b>
<b>Reacciones cutáneas relacionadas con la higiene de manos.....</b>	<b>24</b>
Frecuencia y fisiopatología de la dermatitis de contacto irritante.....	24
Dermatitis de contacto alérgica relacionada con productos de higiene de manos..	25
<b>La transmisión de patógenos en las manos.....</b>	<b>27</b>
Los organismos presentes en la piel de los pacientes o en el entorno inanimado..	27
Organismos transmitidos a las manos por el personal sanitario.....	28
Organismos capaces de sobrevivir en las manos.....	30
Una defectuosa limpieza de manos resulta en manos todavía contaminadas.....	30
Transmisión cruzada de microorganismos por las manos contaminadas.....	31
<b>Modelos de transmisión por las manos.....</b>	<b>33</b>
Modelos experimentales.....	33
Modelos matemáticos.....	33
<b>Relación entre la higiene de las manos y la adquisición de patógenos</b>	
<b>nosocomiales.....</b>	<b>35</b>

**Métodos para evaluar la eficacia antimicrobiana de los agentes para la fricción y lavado de manos, y las formulaciones para la preparación**

<b>quirúrgica de manos.....</b>	<b>37</b>
Los métodos actuales.....	38
Métodos de ensayo de la actividad del lavado higiénico de manos y agentes para la fricción de manos.....	39
Preparación quirúrgica de manos.....	40
Deficiencias de los métodos de ensayo tradicionales.....	41
Lavado higiénico de manos y fricción de manos; lavado de manos y fricción de manos del personal sanitario.....	41
Lavado de manos y fricción de manos quirúrgicas; cepillado de manos quirúrgico; preparación quirúrgica de manos.....	43
Nuevos métodos para el futuro.....	45
<b>Revisión de los preparados empleados para la higiene de manos.....</b>	<b>46</b>
Agua.....	46
Relación entre agua contaminada e infecciones.....	47
Contaminación del agua e infecciones asociadas a cuidados de salud.....	47
Calidad del agua.....	47
Temperatura del agua.....	49
Secado de manos.....	50
Jabón simple (no antimicrobiano).....	50
Soluciones antisépticas.....	51
Alcoholes.....	52

	Página
Clorhexidina.....	57
Yodo y yodóforos.....	58
Cloroxilenol.....	59
Triclosán.....	61
<b>Justificación, objetivos e hipótesis.....</b>	<b>62</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>63</b>
<b>Procedimiento de preparación de la piel, lavado quirúrgico y toma de muestras.....</b>	<b>65</b>
Lavado de manos preparatorio.....	65
Obtención de muestras pre-antisepsia.....	66
Mediante hisopos estériles.....	66
Mediante metodología de la norma UNE-EN 12791.....	66
Procedimiento para antisepsia quirúrgica de manos con producto de referencia..	67
Procedimiento para antisepsia quirúrgica de manos con producto objeto de ensayo.....	67
Obtención de muestras post-antisepsia.....	68
Mediante hisopos estériles.....	68
Mediante metodología de la norma UNE-EN 12791.....	68
Obtención de muestras a las 3 horas tras antisepsia.....	68
Mediante hisopos estériles.....	68
Mediante metodología de la norma UNE-EN 12791.....	69
<b>Cultivo de muestras.....</b>	<b>72</b>
Cultivo de muestras obtenidas por técnica de hisopado.....	72



	Página
Cultivo de muestras obtenidas según norma UNE-EN 12791.....	72
<b>Análisis estadístico .....</b>	<b>73</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>74</b>
<b>Análisis de resultados habiendo realizado la toma de muestras según</b>	
<b>la norma UNE-EN 12971.....</b>	<b>76</b>
<b>Análisis de resultados habiendo realizado la toma de muestras según</b>	
<b>la técnica de hisopado.....</b>	<b>80</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>90</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>96</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>98</b>
<b>CUADROS.....</b>	<b>127</b>
Cuadro I. Diseño experimental básico de los métodos actuales para poner a prueba la eficacia de las formulaciones para la higiene de manos y preparación quirúrgica de manos.....	128
Cuadro II. Patógenos transmitidos a través del agua y su importancia en el suministro de agua.....	130
Cuadro III. Estudios que comparan la eficacia relativa (en base a las reducciones log10 logradas) de jabón normal o jabones antimicrobianos, frente a antisépticos de base alcohólica en la reducción de los recuentos de bacterias viables en manos_	131
<b>ANEXOS.....</b>	<b>133</b>
Anexo I. Informe favorable del CEIC del Hospital Clínico San Carlos.....	134
Anexo II. Hoja de información al paciente y consentimiento informado.....	135
Anexo III. Procedimiento normalizado del lavado de las manos/frotado de manos_	136

## RESUMEN

---

## Introducción:

Durante siglos, el lavado de manos con agua y jabón fue considerado una medida de higiene personal, sin embargo, la relación entre el lavado de manos y la propagación de la enfermedad, sólo se estableció en los últimos 200 años. A mediados de la década de 1800, los estudios de Ignaz Semmelweis en Viena y Oliver Wendell Holmes en Boston, establecieron que las enfermedades adquiridas en el hospital, ahora se sabe que por agentes infecciosos, se transmiten a través de las manos del personal sanitario.

En 1938, Price estableció que las bacterias recuperadas de las manos se pueden dividir en dos categorías: transitoria y residente. La flora residente consiste en microorganismos que residen en las células superficiales del *stratum corneum* y también se pueden encontrar en la superficie de la piel. La flora transitoria, que coloniza las capas superficiales de la piel, es más susceptible de eliminarse por el lavado de manos rutinario.

En el siglo XIX, Joseph Lister demostró el efecto de la antisepsia de manos en la reducción de la infección del sitio quirúrgico. La preparación quirúrgica de las manos es un elemento crítico en la atención quirúrgica segura, su objetivo es reducir la liberación de bacterias de la piel de las manos del equipo quirúrgico durante el procedimiento en caso de punción inadvertida del guante quirúrgico y la potencial liberación de bacterias a la herida abierta. En contraste con el lavado de manos higiénico, o fricción de manos, la preparación quirúrgica de manos debe eliminar la flora transitoria y reducir la flora residente, así como inhibir el crecimiento de las bacterias bajo la mano enguantada. El espectro de la actividad antimicrobiana para la preparación quirúrgica de manos debe ser lo más amplia posible frente a bacterias y hongos. Los virus, raras veces están implicados en la infección del sitio quirúrgico y no forman parte de los métodos de ensayo de la antisepsia quirúrgica de manos.

A pesar de la escasez de adecuados ensayos controlados aleatorios, hay pruebas sustanciales de que la antisepsia de manos reduce la incidencia de infecciones nosocomiales. A excepción de los jabones no medicados, cada nueva formulación para la asepsia de manos, debe demostrar que tiene una eficacia superior al jabón normal y que cumple con los requisitos estándares de calidad. Son muchos los métodos disponibles actualmente para este propósito, pero algunos son más útiles y relevantes que otros, por ejemplo, la determinación de la concentración inhibitoria mínima de tales formulaciones contra las bacterias, no tiene relación directa con el efecto letal esperado de tales productos en la realidad; las condiciones en suspensión, y los test *in vitro* o *ex vivo*, no reflejan las de la

piel humana, e incluso los test de uso simulado con voluntarios son considerados por algunos como demasiado controlados.

Además, las comparaciones directas de los resultados de las pruebas de eficacia *in vivo* del lavado de manos, lavado de manos con antiséptico, fricción de manos con antiséptico y antisepsia quirúrgica de manos no son posibles debido a las amplias variaciones en los protocolos de ensayo. Tales variaciones incluyen si las manos están deliberadamente contaminadas con bacterias antes del uso de la sustancia de ensayo, el método usado para contaminar dedos o manos, el volumen del producto aplicado para la higiene de manos, el tiempo que el producto está en contacto con la piel y el método usado para recuperar las bacterias de la piel tras el uso de la formulación de ensayo.

Actualmente existen, principalmente, cinco productos comercializados para realizar la asepsia preoperatoria que contienen alcohol, clorhexidina, yodo/yodóforos, paraclorometaxilenol y triclosán. Sin embargo, a pesar de la gran variedad de productos y agentes antisépticos, no existe ninguno que sea ideal para todas las situaciones, sin olvidar que uno de los grandes factores, además de la eficacia de cada producto, es la aceptabilidad que los profesionales le den para su uso repetido y la gran variedad de prácticas comúnmente empleadas en la higiene de manos.

El objetivo del presente estudio fue determinar si el antiséptico paraclorometaxilenol 3% tiene la misma eficacia bactericida que el antiséptico digluconato de clorhexidina 4%, tras el lavado quirúrgico de manos.

### **Material y métodos:**

Se realizó un estudio experimental, de muestreo no probabilístico en fase IV, con un diseño cuasi-experimental o de intervención no aleatorizada, con una evaluación pre-intervención y post-intervención en cuadrado latino. La muestra fueron 20 voluntarios adultos sanos, entre 24-36 años, a los que se les instruyó en el lavado de manos. Las variables independientes fueron las soluciones antisépticas empleadas para la desinfección de manos, siendo el antiséptico estándar el propanol-1 60% y los antisépticos a ensayo el digluconato de clorhexidina 4% y el paraclorometaxilenol 3%. La variable dependiente de estudio fue la carga bacteriana inmediatamente después de realizar el lavado quirúrgico de manos, la carga bacteriana a las 3 horas de llevar colocados los guantes quirúrgicos de látex estériles sin polvo, así como la diferencia de carga bacteriana antes, inmediatamente después de realizar dicho lavado de manos y a las 3 horas, habiendo empleado guantes quirúrgicos.

El estudio se realizó siguiendo las directrices de la norma UNE-EN 12791.

### **Resultados:**

Tanto en el estudio del efecto inmediato como en el estudio del efecto a las tres horas, se partió de muestras homogéneas.

Entre el paraclorometaxilenol 3% y el digluconato de clorhexidina 4% no existen diferencias estadísticamente significativas en el logaritmo de la carga bacteriana inmediatamente después de realizar la asepsia de manos, ni inmediatamente después de realizar la asepsia, ni a las tres horas llevando la mano enguantada.

Entre el paraclorometaxilenol 3% y el propanol-1 60% existen diferencias estadísticamente significativas en el logaritmo de la carga bacteriana inmediatamente después de realizar la antisepsia de manos y a las tres horas habiendo empleado guante estéril, siendo más efectivo en la reducción de la carga bacteriana de las manos, tanto de forma inmediata a la asepsia como a las tres horas habiendo tenido la mano enguantada.

### **Conclusiones:**

El antiséptico que tiene una mayor eficacia bactericida, tanto en su efecto inmediatamente después de realizar la asepsia de manos, como en su efecto a las tres horas, con la mano enguantada es el propanol-1 60%. El paraclorometaxilenol 3% presenta una eficacia bactericida similar al digluconato de clorhexidina 4% tanto en su efecto inmediato como en su efecto a las tres horas, con la mano enguantada, no obteniendo diferencias estadísticamente significativas entre estos dos antisépticos.

### **Palabras clave:**

Paraclorometaxilenol, clorhexidina, propanol, carga bacteriana, norma UNE-EN 12791.

## ABSTRACT

### Introduction:

For centuries, handwashing with soap and water has been considered a measure of personal hygiene but the link between handwashing and the spread of disease has only been established in the last 200 years. In the mid-1800s, studies by Ignaz Semmelweis in Vienna and Oliver Wendell Holmes in Boston established that hospital-acquired diseases, now known to be caused by infectious agents, were transmitted via the hands of health-care workers.

In 1938, Price established that bacteria recovered from the hands could be divided into two categories, namely transient or resident. The resident flora consists of microorganisms residing under the superficial cells of the *stratum corneum*, and can also be found on the surface of the skin. Transient flora, which colonizes the superficial layers of the skin, is more amenable to removal by routine handwashing.

In the 19th century, Joseph Lister demonstrated the effect of hand antisepsis on the reduction of surgical site infections. Surgical hand preparation is a critical element of safe surgical care; it aims to reduce the release of skin bacteria from the hands of the surgical team for the duration of the procedure in the event of an unnoticed puncture of the surgical glove and potential release of bacteria to the open wound. In contrast to the hygienic handwash or handrub, surgical hand preparation must eliminate the transient and reduce the resident flora. It should also inhibit growth of bacteria under the gloved hand. The spectrum of antimicrobial activity for surgical hand preparation should be as broad as possible against bacteria and fungi. Viruses are rarely involved in surgical site infection and are not part of surgical hand antisepsis test procedures.

Despite a paucity of appropriate randomized, controlled trials, there is substantial evidence that hand antisepsis reduces the incidence of health care-associated infection. With the exception of non-medicated soaps, every new formulation for hand antisepsis should be tested for its antimicrobial efficacy to demonstrate that it has superior efficacy over normal soap or it meets an agreed performance standard. Many methods are currently available for this purpose, but some are more useful and relevant than others. For example, determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of such formulations against bacteria has no direct bearing on the “killing effect” expected of such products in the field. Conditions in suspension, and *in vitro* or *ex vivo* testing do not reflect those on human skin. Even simulated-use tests with volunteers are considered by some as “too controlled”.

Furthermore, direct comparisons of the results of in vivo efficacy testing of handwashing, antiseptic handwash, antiseptic handrub and surgical hand antisepsis are not possible because of wide variations in test protocols. Such variations include: whether hands are purposely contaminated with bacteria before use of the test agent; the method used to contaminate fingers or hands, the volume of hand hygiene product applied, the time the product is in contact with the skin and the method used to recover bacteria from the skin after the test formulation has been used.

Nowadays, there are mainly five commercialized products for preoperative asepsis which contain alcohol, chlorhexidine, iodine/iodophors, parachlorometaxylenol and triclosan. However, despite the variety of products and antiseptics agents, no one is ideal for all situation. In addition to the effectiveness of each product, one of the major factor is the acceptability that the professional will use repeated and the wide variety of practices commonly used in hand hygiene.

The aim of this study is to determine whether the antiseptic 3% parachlorometaxylenol (PCMX) has the same bactericidal efficacy than the antiseptic 4% chlorhexidine digluconato (CHG) after surgical scrub.

### **Methods:**

A experimental study of non-probabilistic sampling in IV phase was performed, with a quasi-experimental design or non-randomized intervention and pre-intervention and post-intervention assessment. The sample consisted in 20 healthy adult volunteers, between 24-36 years, who were instructed in handwashing. The independent variables were the antiseptic solutions used for hand disinfection. The gold standard was the 60% propanol-1 and the antiseptics tested were 4% chlorhexidine digluconate and 3% parachlorometaxylenol. The dependent variable was the bacterial counts sampled immediately after surgical hand disinfection, the bacterial load 3 hours after surgical hand disinfection wearing sterile gloves and the difference between bacterial load before, immediately after and 3 hours after surgical hand disinfection wearing sterile gloves.

The study was conducted following the UNE-EN 12791 guidelines.

### **Results:**

Both in immediately effect and after three hours effect, homogeneous samples were assumed.

No significant differences in the logarithm of the initial bacterial load between the two antiseptics, or immediately after antiseptics, or 3 hours wearing gloved hand. Significant differences were found in the immediate reduction of bacterial load, decrease when used PCMX and increasing with chlorhexidine.

No significant statistically differences in the logarithm of the bacterial load after hand asepsis, immediately after asepsis or after three hours using sterile gloves between 3% parachlorometaxilenol and 4% chlorhexidine digluconate.

Significant statistically differences were found in the logarithm of the bacterial load immediately after hand asepsis and after three hours using sterile glove between 3% parachlorometaxilenol and 60% propan-1-ol. 60% Propan-1-ol was more effective in reducing bacterial load of hands, both immediately after the asepsis as three hours wearing sterile glove.

#### **Conclusions:**

The antiseptic which has the higher bactericidal efficacy, both in its immediately effect after hand asepsis, as in three hours effect using sterile gloves is 60% propan-1-ol. 3% parachlorometaxilenol has similar bactericidal efficacy than 4% chlorhexidine digluconato both immediately effect after hand asepsis, as in three hour effect using sterile gloves, not founding significant statistically differences between these two antiseptics.

#### **Keywords:**

Parachlorometaxilenol, chlorhexidine, propan-1-ol, bacterial load, UNE-EN 12791.



# INTRODUCCIÓN

---

## Antecedentes históricos de la higiene de manos en el cuidado de la salud

Durante siglos, el lavado de manos con agua y jabón fue considerado una medida de higiene personal (1,2), sin embargo, la relación entre el lavado de manos y la propagación de la enfermedad sólo se estableció en los últimos 200 años. A mediados de la década de 1800, los estudios de Ignaz Semmelweis en Viena y Oliver Wendell Holmes en Boston establecieron que las enfermedades adquiridas en el hospital, ahora se sabe que son causadas por agentes infecciosos, se transmiten a través de las manos del personal sanitario. En la comunidad, se reconoce que la higiene de manos es una importante medida para prevenir y controlar las enfermedades infecciosas y puede reducir significativamente la carga de la enfermedad (3), en particular, entre los niños de los países en desarrollo (4,5). En los cuidados de salud, un ensayo controlado prospectivo realizado en un hospital infantil (6) y las investigaciones realizadas durante los últimos 40 años, han confirmado el importante papel que las manos contaminadas del personal sanitario desempeñan en la transmisión de infecciones nosocomiales. Actualmente, la higiene de manos se considera la medida más importante para prevenir la propagación de agentes patógenos en los entornos sanitarios (7).

La década de 1980 representó un hito en la evolución de los conceptos de higiene de las manos en la atención sanitaria. Las primeras directrices nacionales de higiene de manos, fueron publicadas en dicha década (8,9), seguido por muchos otros en años más recientes. Estas directrices fueron esencialmente publicadas en los países del hemisferio norte, incluyendo a Estados Unidos, Canadá y algunos países europeos. Por lo tanto, se puede observar que el concepto de higiene de manos ha evolucionado mucho en las últimas dos décadas (10).

En 1961, el Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, realizó una película de entrenamiento que mostraba las técnicas de lavado de manos recomendadas para su uso por el personal sanitario (11). En ese momento, se recomendaba lavarse las manos con agua y jabón, de 1 a 2 minutos antes y después del contacto con el paciente. Enjuagar las manos con un agente antiséptico se creía que era menos eficaz que el lavado de manos y fue recomendado sólo en situaciones de emergencia o en áreas donde los lavabos no estaban disponibles. Veinte años más tarde, las directrices nacionales de los Estados Unidos (9), todavía recomendaban agentes antisépticos que no precisaran agua (soluciones con base de alcohol) sólo cuando no haya lavabos disponibles, considerándose el lavado de manos con jabón el estándar de cuidado. Posteriormente, las pautas de higiene de manos en EE.UU.

(12,13) incluyeron una discusión más detallada de los antisépticos de manos a base de alcohol y apoyaron su uso en más entornos clínicos de lo que lo habían hecho previamente (13). En 1995 y 1996, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)/Comité Asesor sobre Prácticas de Control de Infecciones de Salud (HICPAC) recomendaron el uso, bien de jabón antimicrobiano bien de un agente antiséptico que no precisara agua, para la limpieza de las manos al salir de las habitaciones de los pacientes con patógenos resistentes a múltiples fármacos, como *Enterococos* resistentes a vancomicina (VRE) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticiclina (MRSA) (14,15). Más recientemente, las guías emitidas en 2002 por CDC/HICPAC definieron el antiséptico de manos a base de alcohol como el estándar del cuidado para las prácticas de higiene de manos en los centros de atención a la salud (7).

En los países de Europa Central, el uso de las frotaciones a base de alcohol para la higiene de manos ha sido el método de elección durante muchos años (16). Sin embargo, en otros muchos países, el lavado de manos todavía es considerado el estándar de cuidado, quedando reservadas las fricciones con alcohol solo a situaciones particulares (emergencia, lavabos no disponibles) (16).

Las publicaciones de la OMS frente a las medidas de control de infecciones para reducir la propagación de patógenos en los centros de atención a la salud, hacen énfasis en la higiene de manos como medida esencial (17–19). Sin embargo, hasta el momento, la guía que se refiere a la técnica de higiene de manos, no ha clasificado la fricción de manos como el estándar de referencia cuando se compara con el lavado de manos con agua y jabón. Las recomendaciones para el control de MRSA sugieren frotar las manos con una alternativa “a falta de buen suministro de agua o agua corriente” (17). Dos recientes pautas de control de infecciones de la OMS, proporcionan una descripción detallada de la parte técnica de frotar, y sugieren que la higiene de las manos se realice por el lavado o frotado de manos, pero sin indicar ninguna ventaja de uno sobre otro (18,19).

## Preparación quirúrgica de manos

### Evidencia de la preparación quirúrgica de manos

Históricamente, Joseph Lister (1827-1912) demostró el efecto de la antisepsia de manos en la reducción de infección del sitio quirúrgico (20). Los guantes quirúrgicos no estaban disponibles en ese momento, de manera que se requería una apropiada antisepsia del sitio quirúrgico en el paciente y de las manos del cirujano (21). Durante varias décadas del siglo

XIX, la preparación quirúrgica de manos consistió en el lavado de las manos con un jabón antimicrobiano y agua tibia, frecuentemente con el uso de un cepillo (22). En 1894, se sugirieron tres pasos: (i) lavarse las manos con agua caliente, jabón medicado y cepillarse durante 5 minutos; (ii) aplicar etanol al 90% durante 3-5 minutos con un cepillo; y (iii) lavar las manos con un líquido aséptico (22). En 1939, Price sugirió un lavado de manos de 7 minutos con agua, jabón y cepillo, seguido de etanol al 70% durante 3 minutos tras secarse las manos con una toalla (23). El tiempo recomendado para la preparación quirúrgica de las manos se redujo de más de 10 minutos a 5 minutos (24,25). Incluso hoy en día, los protocolos de 5 minutos son comunes (26). Una comparación de las prácticas de los diferentes países, reveló que existían tantos protocolos como países figuraban (27).

La introducción de guantes estériles no hace que la preparación quirúrgica sea innecesaria. Los guantes estériles contribuyen a la prevención de la contaminación del sitio quirúrgico (28) y reducen el riesgo de transmisión de patógenos de la sangre de los pacientes al equipo quirúrgico (29). Sin embargo, el 18% (rango: 5-82%) de los guantes tiene diminutos pinchazos después de la cirugía, pasando desapercibido para el cirujano más del 80% de estos casos. Después de dos horas de cirugía, el 35% de todos los guantes mostraron punción, permitiendo así que el agua (y por lo tanto también fluidos corporales) puedan penetrar en los guantes sin utilizar presión (30). El doble enguantado disminuye el riesgo de punción durante la cirugía, sin embargo se observaron pinchazos en el 4% tras el procedimiento (31,32). Además, los guantes no usados, no previenen totalmente la contaminación bacteriana de las manos (33). No sorprende que se hayan reportado varios brotes, cuyo rastro ha llevado a las manos contaminadas en el equipo quirúrgico a pesar del uso de guantes estériles (34,35). Además, un brote de infecciones del sitio quirúrgico se produjo cuando los cirujanos, que normalmente utilizan un preparado antiséptico para el lavado quirúrgico, cambiaron a un producto no antimicrobiano (36). A pesar de esta evidencia indirecta de la necesidad de antisepsia quirúrgica de manos, este requisito previo a las intervenciones quirúrgicas nunca se ha demostrado por un ensayo clínico controlado y aleatorizado. Un ensayo aleatorio para mostrar los beneficios *in vitro* de un producto para la fricción de manos de base alcohólica en comparación con un cepillado de manos con clorhexidina no demostró una reducción de las infecciones del sitio quirúrgico (26), aunque con toda probabilidad, este tipo de estudio no sería aceptado por un Comité de Ética y no se podrá realizar de nuevo (37).

Los guantes reducen el riesgo de exposición del personal sanitario a los patógenos transmitidos por la sangre. En cirugía ortopédica, el doble enguantado ha sido una práctica común que reduce significativamente, pero no elimina, el riesgo de pinchazos durante la

cirugía (38). Dado el alto porcentaje de punciones encontrado después de la cirugía, sería deseable que el equipo quirúrgico pueda beneficiarse de un producto con un efecto antiséptico prolongado en la piel y capaz de inactivar los virus transmitidos por la sangre, tales como el virus VIH o la hepatitis, en particular, en los casos donde los guantes se rasgan y se produce la exposición a tales virus durante la cirugía (29).

### Objetivos de la preparación quirúrgica de manos

La preparación quirúrgica de manos es un elemento crítico de la atención quirúrgica segura (39), su objetivo es reducir la liberación de bacterias de la piel de las manos del equipo quirúrgico durante el procedimiento en caso de una punción inadvertida del guante quirúrgico y la potencial liberación de bacterias a la herida abierta (40). En contraste con el lavado de manos higiénico o fricción de manos, la preparación quirúrgica de manos, debe eliminar la flora transitoria y reducir la flora residente (41,42). También debe inhibir el crecimiento de las bacterias bajo la mano enguantada. La rápida multiplicación de bacterias de la piel debajo de los guantes quirúrgicos se produce si las manos se lavan con un jabón no antimicrobiano, mientras que se produce más lentamente si previamente se ha realizado un lavado preoperatorio con un jabón medicado. La flora de la piel, sobretodo estafilococos coagulasa-negativos, *Propionibacterium* spp. y *Corynebacteria* spp., rara vez son responsables de infecciones del sitio quirúrgico, pero en presencia de un cuerpo extraño o tejido necrótico, incluso inoculas tan bajas como 100 CFU, pueden desencadenar este tipo de infecciones (43). La virulencia de los microorganismos, extensión de la exposición microbiana, presencia de materiales extraños (por ejemplo, implantes) y los mecanismos de defensa del huésped son factores clave en la patogénesis de la infección postoperatoria, factores de riesgo que en gran medida están fuera de la influencia del equipo quirúrgico. Por lo tanto, los productos para la preparación quirúrgica de manos deben eliminar la flora transitoria y reducir significativamente la flora residente en el comienzo de una operación y mantener la liberación microbiana de las manos por debajo de los valores de referencia hasta el final de la operación (37).

El espectro de actividad antimicrobiana para la preparación quirúrgica de manos debe ser lo más amplia posible frente a bacterias y hongos (44). Los virus raras veces están implicados en la infección del sitio quirúrgico y no forman parte de los métodos de ensayo de la antisepsia quirúrgica de manos para la concesión de licencias en cualquier país. Del mismo modo, la actividad contra las bacterias productoras de esporas no forma parte de los métodos de ensayo internacionales. En un brote de diarrea asociada a antibióticos, las manos del 59% de 35 profesionales sanitarios eran *C. difficile*-positivas después del contacto directo con los pacientes con cultivo positivo; se encontraron colonias en la zona

subungueal del 43% del personal sanitario (45). En otro estudio, el 14% de 73 profesionales sanitarios fue cultivo positivo para *C. difficile* (46). El potencial de transmisión de esporas por manos contaminadas no se puede descartar. La transmisión de *Clostridium* spp., especialmente *C. perfringens*, durante la intervención, podría teóricamente inducir infecciones potencialmente mortales que podrían ser responsables de las muertes inexplicables tras un implante ortopédico y una cirugía de aloinjerto (47), así mismo, un caso de infección ósea asociado a osteosíntesis causada por *Clostridium botulinum* como cepa, fue reportado tras la reparación de una fractura supracondílea del húmero (48).

## Flora bacteriana normal de las manos

En 1938, Price (23) estableció que las bacterias recuperadas de las manos se pueden dividir en dos categorías: transitoria y residente. La flora residente consiste en microorganismos que residen en las células superficiales del *stratum corneum* y también se pueden encontrar en la superficie de la piel (49). El *Staphylococcus epidermis* es la especie dominante (50), y su resistencia a la oxalacina es extraordinariamente alta, especialmente entre el personal sanitario (51). Otras bacterias residentes incluyen *Staphylococcus hominis* y otros estafilococos coagulasa negativos, seguido de bacterias corineformes (*propionibacteria*, *corynebacteria*, *dermobacteria* y *micrococci*) (52). Entre los hongos, el género más común de la flora residente de la piel, cuando está presente, es el *Pityrosporum* (*Malassezia*) spp. (53). La flora residente tiene dos funciones principales de protección: el antagonismo microbiano y la competencia por nutrientes en el ecosistema (54). En general, es menos probable que la flora residente se asocie con infecciones, pero pueden causar infecciones en cavidades corporales estériles, en los ojos y en la piel no intacta (34).

La flora transitoria, que coloniza las capas superficiales de la piel, es más susceptible de eliminarse por el lavado de manos rutinario. Los microorganismos transitorios, por lo general, no se multiplican en la piel, sino que sobreviven y se multiplican de forma esporádica en la superficie de la piel (54). A menudo son adquiridos por los trabajadores sanitarios durante el contacto directo con los pacientes o superficies ambientales contaminadas adyacentes al paciente, siendo los organismos más frecuentemente asociados con las infecciones asociadas con la atención de la salud. La transmisibilidad de la flora transitoria depende de las especies presentes, el número de microorganismos en la superficie y la humedad de la piel (55,56), pudiendo quedar las manos de algunos trabajadores sanitarios persistentemente colonizada por flora patógena como *S. Aureus*, bacilos Gram-negativos o levaduras (57).

La piel humana normal está colonizada por bacterias, con recuentos de bacterias aeróbicas totales que van desde más  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colonias (CFU)/cm<sup>2</sup> en el cuero cabelludo,  $5 \times 10^5$  CFU/cm<sup>2</sup> en la axila, y  $4 \times 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup> en el abdomen hasta  $1 \times 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup> en el antebrazo (58). El total de los recuentos bacterianos en las manos del personal sanitario ha oscilado entre  $3,9 \times 10^4$  a  $4,6 \times 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup> (23,59-61). La contaminación dactilar varió desde 0 a 300 CFU cuando las muestras se toman con métodos de contacto con agar (62). Price e investigadores posteriores documentaron que aunque el número de flora residente y transitoria varíe considerablemente entre individuos, a menudo es constante en un mismo individuo (23,63).

## Fisiología de la piel normal

La función principal de la piel es reducir la pérdida de agua, proporcionar protección contra la acción abrasiva y los microorganismos y, en general, actuar como una barrera permeable hacia el entorno. Su estructura básica es: una región superficial, denominada *stratum corneum* o capa córnea, con un grosor de entre 10 y 20  $\mu\text{m}$ ; subyacente a esta región está la epidermis viable (50-100  $\mu\text{m}$ ), dermis (1-2 mm) y la hipodermis (1-2 mm). La barrera para la absorción percutánea se encuentra dentro del *stratum corneum*, el compartimento más delgado y más pequeño. El *stratum corneum* contiene los corneocitos o células córneas, que son células planas, no nucleadas, en forma de poliedro, restos de las terminaciones diferenciadas de los queratocitos que se encuentran en la epidermis viable. Los corneocitos están compuestos principalmente por paquetes de queratina insoluble, rodeadas por una envoltura celular estabilizada por proteínas reticuladas y lípidos con enlaces covalentes. Comunicando los corneocitos del *stratum corneum* están las estructuras polares, tales como los corneodesmosomas, que contribuyen a la cohesión del *stratum corneum* (37).

La región intercelular del *stratum corneum* se compone de lípidos generados principalmente de la exocitosis de los cuerpos lamelares, durante la diferenciación terminal de los queratocitos, dichos lípidos intercelulares son necesarios para una barrera efectiva de la piel y formar un tejido acontinuo. Directamente debajo del *stratum corneum* se encuentra la epidermis estratificada, compuesta principalmente por 10-20 capas de células epiteliales queratinizantes, que son las responsables de la síntesis del *stratum corneum*. Estas capas también contienen melanocitos implicados en la pigmentación de la piel; células de Langerhans, que son importantes en la presentación de antígenos y respuesta inmune; y células de Merkel, cuyo papel exacto en la recepción sensorial todavía no ha sido detallado

completamente. Como queratinocitos sufren una diferenciación terminal, empiezan a aplanarse y a asumir dimensiones características de los corneocitos, es decir, su diámetro cambia de 10-12µm a 20-30 µm y su volumen aumenta de 10 a 20 veces. La epidermis viable no contienen una red vascular y sus queratinocitos obtienen sus nutrientes por difusión pasiva a través del fluido intersticial (37).

La piel es una estructura dinámica. La función barrera no surge simplemente por la degeneración, muerte y compactación de la epidermis subyacente. Por el contrario, el proceso de queratinización y descamación están íntimamente ligados; la síntesis del *stratum corneum* se produce a la misma velocidad que su pérdida. Ahora hay evidencias sustanciales de que la formación de la barrera de la piel está bajo control homeostático, lo que queda reflejado por la respuesta epidérmica para evitar alteraciones en la barrera mediante el pelado de la piel o la extracción solvente. Hay evidencias circunstanciales de que el grado de proliferación de queratinocitos está directamente influenciado por la integridad de la barrera de la piel. Un aumento general en la tasa de proliferación se traducirá en una disminución en el tiempo para: (i) la absorción de nutrientes, tales como ácidos grasos esenciales; (ii) la síntesis de proteínas y lípidos; y (iii) el tratamiento de las moléculas precursoras necesarias para la función barrera de la piel. Aún no está claro si los aumentos crónicos pero cuantitativamente más pequeños en la tasa de proliferación epidérmica también conducen a cambios en la función barrera de la piel. Del mismo modo, no está claro si el grado en que disminuye la función barrera causada por irritantes es debido a un aumento en la proliferación epidérmica (37).

El actual conocimiento de la formación del *stratum corneum* se debe a estudios de la respuesta epidérmica a las alteraciones en la barrera de la piel. Los procesos experimentales que alteran la barrera de la piel incluyen: (i) extraer los lípidos de la piel por disolventes apolares; (ii) separar físicamente el *stratum corneum* con cinta adhesiva; (iii) producir irritación química. Todos estos procesos experimentales conducen a una disminución de la barrera de la piel como se determina por la pérdida de agua transepidérmica. Quizás el sistema experimental más estudiado es el tratamiento de la piel de ratones con acetona, lo que lleva a un marcado e inmediato incremento de la pérdida de agua transepidérmica, indicativo del descenso de la función de barrera de la piel. Dado que el tratamiento con acetona elimina selectivamente los glicolípidos y esteroides de la piel, sugiere que estos lípidos son necesarios aunque, quizás, no suficiente por ellos mismos para una función barrera (37). Los detergentes actúan de manera similar a la acetona en la zona lipídica intercelular. El regreso a una función barrera normal es bifásico: el 50-60% de la



recuperación de la barrera normalmente se produce dentro de las 6 horas, pero la normalización completa de la función barrera requiere de 5-6 días (37).

## Reacciones cutáneas relacionadas con la higiene de manos

Hay dos tipos principales de reacciones cutáneas relacionadas con la higiene de manos. La primera y más común incluye síntomas que pueden variar de leves a incapacitantes, incluyendo sequedad, irritación, picor e incluso agrietarse y sangrar, es lo que se conoce como dermatitis de contacto irritante. El segundo tipo de reacción de la piel, la dermatitis de contacto alérgica, es poco frecuente y representa una alergia a algún ingrediente del producto para la higiene de manos. Los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica también pueden variar de leve a grave, y de localizada a generalizada. En su forma más grave, la dermatitis alérgica de contacto puede estar asociada con dificultad respiratoria y otros síntomas de la anafilaxia. Por lo tanto, a veces es difícil diferenciar entre las dos condiciones.

### Frecuencia y fisiopatología de la dermatitis de contacto irritante

En algunas encuestas, el 25% del personal de enfermería informó de síntomas o signos de dermatitis en sus manos, y hasta un 85% refieren tener problemas en la piel (64). El uso frecuente y repetido de productos de higiene de las manos, en particular, de jabones y otros detergentes, es una causa importante de dermatitis de contacto irritativa crónica entre los profesionales sanitarios (65). Durante el programa multimodal para el cambio cultural de la higiene de manos, las reacciones adversas cutáneas fueron poco frecuentes entre los trabajadores sanitarios (13/2750) expuestos a una preparación de base alcohólica que contenía gluconato de clorhexidina y emoliente de la piel (66); lo que representa un evento de reacción cutánea adversa por 72 años de exposición del personal sanitario. El potencial de los detergentes para causar irritación de la piel varía considerablemente y puede reducirse por la adición de humectantes. La irritación asociada con jabones antimicrobianos puede ser atribuible al agente antimicrobiano o a otros ingredientes de la formulación. Los trabajadores sanitarios afectados, a menudo se quejan de una sensación de sequedad o ardor de la piel, que sienten como áspera, y eritema, descamación o fisuras (37).

Los productos para la higiene de manos, dañan la piel, causando la desnaturalización de las proteínas del *stratum corneum*, cambios en los lípidos intercelulares, disminución de la cohesión de los corneocitos y disminución de la capacidad de retener agua del *stratum corneum* (65,67). Entre estos, la principal preocupación es la pérdida de la barrera lipídica,

que puede ser consecuencia de ponerse en contacto con detergentes emulsionantes de lípidos y de alcoholes disolventes de lípidos (68). El lavado de manos frecuente conduce a la progresiva disminución de los lípidos de la superficie, con el consiguiente resultado de que los detergentes tienen una acción más profunda en las capas superficiales de la piel. Durante las estaciones secas y en las personas con la piel seca, esta disminución de los lípidos se produce con mayor rapidez (68). El daño a la piel también cambia su flora, dando lugar a la frecuente colonización por estafilocosos y bacilos Gram-negativos (60,69).

Aunque los alcoholes son más seguros que los detergentes (70), pueden causar sequedad a irritación de la piel (1,71). El efecto disolvente de lípidos de los alcoholes está inversamente relacionado con su concentración (68), siendo el etanol menos irritante que el n-propanol o isopropanol (71).

En general, la dermatitis de contacto irritante se manifiesta con mayor frecuencia con yodóforos (72). Otros agentes antisépticos que pueden causar dermatitis de contacto irritante, en orden decreciente de frecuencia, incluyen productos a base de clorhexidina, cloroxilenol, triclosan y alcohol. La piel que está dañada por la exposición repetida a los detergentes, puede ser más susceptible a la irritación por cualquier formulación para la antisepsia de manos, incluidas las preparaciones a base de alcohol (73). Graham et al. documentaron bajas tasas de reacciones cutáneas adversas con una formulación para la fricción de manos de base alcohólica (alcohol isopropílico 70%), que contenía clorhexidina 0,5%) y emolientes (66).

La información sobre el potencial de irritación de los preparados comerciales para la higiene de manos, que a menudo se determina mediante la medición de la pérdida de agua transdérmica de personas que utilizan la preparación, puede estar disponible en el fabricante. Otros factores que pueden contribuir a la dermatitis asociada a la frecuencia de la limpieza de manos, incluyen el uso de agua caliente para el lavado de manos, una baja humedad relativa (más común en los meses de invierno en el hemisferio norte), no usar loción de manos complementaria o crema y, quizás, la calidad de las toallas de papel (74,75). Las fuerzas transversales asociadas con el uso o la retirada de guantes y la alergia a las proteínas de látex también pueden contribuir a la dermatitis de las manos del personal sanitario (68).

### **Dermatitis de contacto alérgica relacionada con los productos de higiene de manos**

Las reacciones alérgicas a los productos aplicados a la piel (alergia de contacto) pueden presentarse como reacciones de tipo retardado (dermatitis de contacto alérgica) o, menos comúnmente, como reacciones inmediatas (urticaria) de contacto. Las causas más comunes

de las alergias de contacto son las fragancias y conservantes, siendo menos comunes con emulsionantes (76–79). Los jabones líquidos, cremas de manos, pomadas o cremas utilizadas por el personal sanitario pueden contener ingredientes que causen alergias de contacto (77,78).

Se han reportado reacciones alérgicas a los agentes antisépticos, incluyendo los compuestos de amonio cuaternario, yodo o yodóforos, clorhexidina, triclosán, cloroxilenol y alcoholes (76,80–89), así como la posible toxicidad en relación con la absorción dérmica de los productos (90,91). La dermatitis de contacto alérgica atribuible a los productos para la fricción de manos a base de alcohol es muy poco común. La vigilancia en un gran hospital de Suiza, donde se ha utilizado un preparado comercial de base alcohólica durante más de 10 años, no pudo identificar un solo caso documentado de alergia al producto (41). A finales de 2001, el sistema de notificación de reacciones adversas de la FDA sólo informó de un caso de erupción eritematosa atribuido a los productos a base de alcohol para frotarse las manos (JM Boyce, comunicación personal) (37). Sin embargo, con el aumento del uso de este tipo de productos por el personal sanitario, es probable que, de vez en cuando, puedan encontrarse verdaderas reacciones alérgicas a estos productos. Hay algunos informes de dermatitis alérgica tras el contacto con alcohol etílico (92–94), y un informe de síndrome de urticaria de contacto relacionada con el etanol (95). Más recientemente, Cimiotti et al. informaron de reacciones adversas asociadas con una preparación para la fricción de manos de base alcohólica. En la mayoría de los casos, el personal de enfermería que tenía síntomas fue capaz de reanudar el uso del producto después de un tiempo (82). Este estudio plantea la alerta por posibles reacciones de la piel en preparaciones para la fricción de manos de base alcohólica (37).

Las reacciones alérgicas a las formulaciones de base alcohólica pueden representar alergia verdadera al alcohol o alergia a una impureza o metabolito de aldehído, o alergia a otros constituyentes del producto (81). Las dermatitis de contacto alérgicas o reacciones de urticaria por contacto inmediato pueden ser causadas por el etanol o el isopropanol (81). Las reacciones alérgicas pueden ser causadas por compuestos que pueden estar presentes como ingredientes inactivos en productos para la fricción de manos de base alcohólica, incluyendo fragancias, alcohol bencílico, alcohol estearílico, fenoxietanol, alcohol miristílico, propilenglicol, parabenos o cloruro de benzalconio (76,81,96–100).

## La transmisión de patógenos en las manos

La transmisión de patógenos nosocomiales de un paciente a otro a través de las manos de los trabajadores sanitarios requiere de cinco elementos secuenciales: (i) los microorganismos deben estar presentes en la piel del paciente o haber sido derramados en objetos inanimados del entorno inmediato que rodea al paciente; (ii) los microorganismos deben ser transferidos a las manos del personal sanitario; (iii) los organismos deben ser capaces de sobrevivir, al menos, unos minutos en las manos del personal sanitario; (iv) el lavado de manos o la antisepsia de manos del trabajador sanitario debe ser inadecuada o haber sido omitida por completo, o el agente empleado para la higiene de manos ser inapropiado; y (v) la mano o manos contaminadas del personal sanitario deben entrar en contacto directo con otro paciente o con un objeto inanimado que entrará en contacto con el paciente (37). La evidencia que apoya cada uno de estos elementos, se da a continuación.

### Los organismos presentes en la piel de los pacientes o en el entorno inanimado

Los patógenos nosocomiales se pueden recuperar, no sólo de heridas infectadas o que drenen, sino también de áreas frecuentemente colonizadas de la piel normal e intacta del paciente (101–112). Las áreas perineal o inguinal tienden a estar más fuertemente colonizadas, pero las axilas, tronco y extremidades superiores (incluyendo las manos) también están frecuentemente colonizadas (104,105,107,108,110,112,113). El número de organismos, tales como *S. aureus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* y *Acinetobacter spp.*, presentes en áreas intactas de la piel de algunos pacientes, puede variar de 100 a 1.000.000 CFU/cm<sup>2</sup> (105,107,111,114). Diabéticos, pacientes sometidos a diálisis por insuficiencia renal crónica, y aquellos con dermatitis crónica, son particularmente propensos a tener áreas de piel intacta colonizada por *S. aureus* (115–122). Debido a que casi un millón de escamas de la piel, que contienen microorganismos viables, se caen diariamente de la piel normal (123), no es de extrañar que los vestidos de pacientes, ropa de cama, muebles de noche y otros objetos en su entorno inmediato se encuentren contaminados con la flora del paciente (45,46,112,124,125). Es muy probable que tal contaminación sea debida a estafilococos o enterococos, que son más resistentes a la desecación. La contaminación del entorno inanimado también se ha detectado en las superficies de las salas de lavado, siendo *Staphylococcus* muchos de los microorganismos aislados (126). Las llaves de los grifos solían estar más contaminadas, con valores de referencia por encima de los valores de referencia de otras partes de la sala de lavado. Este estudio pone de manifiesto la gran importancia de la contaminación ambiental en la contaminación microbiana cruzada y la propagación de patógenos (126).

## Organismos transmitidos a las manos del personal sanitario

Hay relativamente pocos datos disponibles sobre los tipos de actividades de atención a pacientes que den lugar a la transmisión de la flora del paciente a las manos del personal sanitario (45,62,108,126–130). En el pasado se hicieron intentos para estratificar las actividades de cuidado de pacientes en aquellas que tienen más probabilidades de causar contaminación de manos (131), pero este tipo de esquemas de estratificación nunca fueron validados mediante la cuantificación del nivel de contaminación bacteriana que presentaba. Casewell & Phillips (128), demostraron que el personal de enfermería puede contaminar sus manos con de 100 a 1000 CFU de *Klebsiella* spp. durante las actividades “limpias” como levantar a los pacientes, tomar el pulso, la presión arterial o la temperatura bucal, o tocando la mano, hombro o ingle del paciente. Del mismo modo, Ehrenkrans et al. (107) cultivaron muestras de las manos del personal de enfermería que había tocado la ingle de pacientes altamente colonizados por *P. mirabilis* y encontraron de 10 a 600 unidades formadoras de colonias (CFU)/ml. en las muestras del jugo del guante.

Pittet et al. (18) estudiaron la contaminación de las manos del personal sanitario antes y después del contacto directo con el paciente, cuidados de heridas, cuidados de catéteres intravasculares, cuidados del tracto respiratorio o manipulación de secreciones de pacientes. Usando la impresión de las yemas de los dedos en placas con agar, encontraron que el número de bacterias recuperadas de las yemas de los dedos variaba de 0 a 300 CFU, siendo el contacto directo con el paciente y los cuidados del tracto respiratorio los que más probabilidades tenían de contaminar los dedos de los cuidadores. Los bacilos Gram-negativos representaron el 15% de las cepas, mientras que el *S. aureus* representó el 11%. Es importante destacar en este estudio, que la duración de la actividad del cuidado del paciente estaba íntimamente asociada a la intensidad de la contaminación bacteriana de las manos del personal sanitario. Un estudio similar, de contaminación de las manos durante los cuidados neonatales rutinarios, definió el contacto con la piel, el cambio de pañal y los cuidados respiratorios como predictores independientes de la contaminación de las manos (132). En este último estudio, el uso de guantes no protegía completamente las manos de los profesionales sanitarios de la contaminación bacteriana, y la contaminación con guante era casi tan alta como la contaminación de la mano tras el contacto con el paciente. Por el contrario, el uso de guantes durante los procedimientos de cambio de pañal y cuidados respiratorios redujo a la mitad el incremento bacteriano CFU/min en las manos del personal sanitario (132).

Varios estudios han documentado que el personal sanitario puede contaminar sus manos con bacilos Gram-negativo, *S. aureus*, enterococos o *Clostridium difficile* realizando

“procedimientos limpios” o tocando áreas intactas de la piel de los pacientes hospitalizados (45,46,108,133). Un reciente estudio que implicó cultivar las manos del personal sanitario tras varias actividades, evidenció que las manos estaban contaminadas tras el contacto con el paciente y después del contacto con fluidos corporales o desechos (134). McBryde et al. (135) estimaron la frecuencia de contaminación de los guantes del personal sanitario con MRSA tras el contacto con un paciente infectado. El personal sanitario fue interceptado después de atender al paciente y las muestras se tomaron de sus manos enguantadas antes de realizar el lavado de manos; el 17% (CI<sub>95</sub> 9-25%) de los contactos con pacientes, vestirles o hacerles la cama derivó en la transmisión de MRSA del paciente a los guantes del personal sanitario. Por otra parte, el personal sanitario que cuida a los bebés infectados por el virus sincitial respiratorio (RVS), lo han adquirido realizando actividades tales como darles de comer, cambio de pañal y jugando con los bebés (129). Los cuidadores que solo tuvieron contacto con las superficies contaminadas con las secreciones de los bebés, también adquirieron RVS. En los mencionados estudios, el personal sanitario contaminaba sus manos con RVS e inoculaba su mucosa oral o conjuntival. Otros estudios también han documentado que las manos (o guantes) del personal sanitario podría estar contaminado después de tocar objetos inanimados de las habitaciones de los pacientes (46,132–139). Del mismo modo, estudios de laboratorio han demostrado que tocar superficies contaminadas puede transferir *S. aureus* o bacilos Gram-negativos a los dedos (140). Por desgracia, ninguno de los estudios relativos a la contaminación de las manos del personal sanitario se diseñó para determinar si la contaminación daba como resultado la transmisión de patógenos a los pacientes susceptibles (37).

Muchos otros estudios han reportado contaminación en las manos del personal sanitario con patógenos potenciales, pero no han relacionado sus hallazgos con un contacto específico precedente con el paciente (59–61,141–147). Por ejemplo, estudios realizados antes de emplear guantes son comunes entre el personal sanitario, Ayliffe et al. (144), encontraron que el 15% del personal de enfermería que trabaja en una unidad de aislamiento lleva una media de  $1 \times 10^4$  CFU de *S. aureus* en sus manos. El 29% del personal de enfermería que trabaja en un hospital general tuvo *S. aureus* en sus manos (recuento medio,  $3,8 \times 10^3$  CFU), mientras que el 78% de aquellos que trabajan en un hospital para pacientes dermatológicos tenían el organismo en sus manos (recuento medio,  $14,3 \times 10^6$  CFU). El mismo estudio reveló que entre el 17% y el 30% del personal de enfermería portaba bacilos Gram-negativos en sus manos (los recuentos medios oscilaron entre  $3,4 \times 10^3$  CFU a  $38 \times 10^3$  CFU). Daschner (142), puso de manifiesto que el *S. aureus* se encontró en las manos del 21% del personal que trabaja en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y que el 21% de los médicos y el 5%

del personal de enfermería era portador de más de mil unidades formadoras de colonias de dicho microorganismo en sus manos. Maki (61) encontró niveles más bajos de colonización en el personal sanitario que trabajaba en una unidad de neurocirugía, con una media de 3 CFUs de *S. aureus* y 11 CFUs de bacilos Gram-negativos. Cultivos seriados revelaron que, al menos una vez, el 100% del personal sanitario ha sido portador de bacilos Gram-negativos y el 64% ha sido portador de *S. aureus*. Un estudio reciente realizado en dos UCIs neonatales encontró bacilos Gram-negativos en el 38% del personal de enfermería (146).

### Organismos capaces de sobrevivir en las manos

Varios estudios han demostrado la capacidad de los microorganismos para sobrevivir en las manos durante diferentes periodos de tiempo. Musa et al. demostraron en un estudio de laboratorio que el *Acinetobacter calcoaceticus* sobrevivía mejor que las cepas de *A. Iwoffii*, 60 minutos después de haber sido inoculadas  $10^4$  CFU/dedo (148). Un estudio similar realizado por Frykund et al., utilizando cepas epidémicas y no epidémicas de *E. coli* y *Klebsiella spp*, mostró que el 50% moría a los 6 y 2 minutos, respectivamente (149). Noslin et al., estudiaron la supervivencia del Enterococo resistente a la vancomicina (VRE) en las manos y en el entorno; tanto en *Enterococo faecalis* como el *E. faecium* sobrevivieron, al menos 60 minutos, en las yemas de los dedos enguantadas y no enguantadas (150). Por otra parte, Doring et al., mostraron que la *P. aeruginosa* y la *Burkholderia cepacia* eran transmisibles por un apretón de manos hasta un máximo de 30 minutos, cuando los microorganismos se suspendieron en una solución salina, y hasta 180 minutos, cuando se suspendieron en esputo (151). El estudio de Islam et al., con *Shigella dysenteriae* mostró su capacidad para sobrevivir en las manos hasta una hora en forma cultivable (152). Dos estudios realizados por Ansari et al., empleando rotavirus (153) y el virus de la parainfluenza humano-3 y rinovirus-14 en otro (154), mostraron que los porcentajes de supervivencia de los rotavirus a los 20 y 60 minutos fueron de 16,1% y 1,8%, respectivamente. La viabilidad a la hora para el virus de parainfluenza humano-3 y rinovirus-14 era <1% y 37,8%, respectivamente. Los estudios mencionados anteriormente demuestran claramente que las manos contaminadas podrían ser los vehículos para la propagación de ciertos virus.

### Una defectuosa limpieza de manos resulta en manos todavía contaminadas

Son pocos los estudios que demuestran la inadecuada limpieza de las manos. A partir de estos pocos estudios, se puede asumir que las manos permanecen contaminadas con el riesgo de transmisión de microorganismos a través de ellas. En un estudio de laboratorio, Larson et al. (155), encontraron que usando tan solo 1 mililitro de jabón líquido o preparado de base alcohólica se producía una remisión logarítmica más baja (mayor número de

bacterias que quedan en las manos), que usando 3 mililitro de un producto para limpiar las manos. Los hallazgos tuvieron relevancia clínica, dado que el personal sanitario habitualmente tan solo emplea 0,4 ml de jabón para lavar sus manos. Kac et al.(156) hicieron un estudio cruzado comparativo de la eficacia microbiológica de la fricción con una solución de base alcohólica y el lavado de manos con un jabón no medicado. Los resultados el estudio fueron: el 15% de las manos del personal sanitario estaba contaminada con patógenos transitorios antes de la higiene de manos; no se recogieron patógenos transitorios después de la fricción de manos, mientras que se encontraron dos casos tras el lavado de manos. Trick et al. (157) realizaron un estudio comparativo de tres agentes para la higiene de manos (fricción de manos con alcohol etílico al 62%, toalla medicada para manos y lavado de manos con agua y jabón), en un grupo de UCI quirúrgica. También estudiaron el impacto de llevar anillos en las manos contaminadas. Sus resultados mostraron que las manos contaminadas con flora transitoria fueron significativamente inferiores después de usar la fricción con solución de base alcohólica, comparada con las toallas medicadas o el agua y jabón. El uso de anillos incrementó la frecuencia de la contaminación de las manos con patógenos potencialmente nosocomiales. El uso de uñas acrílicas postizas puede provocar que las manos permanezcan contaminadas con patógenos después del uso tanto de jabón como de gel de base alcohólica (158). Sala et al. (159), investigando un brote de toxoinfección alimentaria atribuido al norovirus de genogrupo 1, localizó el caso primario en un manipulador de alimentos de la cafetería del hospital. La mayoría de los comestibles consumidos en el brote fueron realizados a mano, lo que sugiere una higiene de manos inadecuada. Noskin et al.(150), en un estudio utilizando VRE, mostraron que un lavado de 5 segundos solo con agua no producía cambios en la contaminación, y el 20% de los microorganismos iniciales eran recuperados en las manos sin lavar. En el mismo estudio, un lavado de 5 segundos con dos jabones no eliminó completamente los microorganismos, con una recuperación de aproximadamente el 1%; era necesario un lavado de 30 segundos con cualquiera de los jabones para eliminar completamente los microorganismos de las manos (150).

### **Transmisión cruzada de microorganismos por manos contaminadas**

Existen varios estudios que muestran la transmisión cruzada de microorganismos por las manos. Los factores que influyen en la transmisión de microorganismos de una superficie a otra y que afecta a las tasas de contaminación cruzada son el tipo de microorganismo, la fuente y la superficie de destino, el nivel de humedad y el tamaño del microorganismo (37). Harrison et al. (160), mostraron que las manos contaminadas pueden



contaminar un dispensador de toallas de papel limpias y viceversa. Las tasas de transmisión varían del 0,01% al 0,64%, y del 12,4% al 13,1%, respectivamente.

Un estudio realizado por Baker et al. (161), demostró que los dedos contaminados con norovirus podían transferir virus hasta un máximo de siete superficies limpias, y desde la ropa de limpieza contaminada a manos y superficies limpias. Las manos contaminadas del personal sanitario han sido asociadas con infecciones nosocomiales endémicas (162,163). Sartor et al. (163) proporcionan evidencia de que la *Serratia marcescens* endémica se transmite del jabón contaminado a los pacientes a través de las manos del personal sanitario. Durante una investigación de brotes de *Serratia liquefaciens*, infecciones del torrente sanguíneo y fiebre en un centro de hemodiálisis, los patógenos fueron aislados de viales de medicación extrínsecamente contaminados por el uso de múltiples dosis, del jabón antibacteriano y de la loción para las manos (164). Duckro et al. (165), mostraron que el VRE podía ser transmitido desde un ambiente contaminado o la piel intacta de los paciente a sitios limpios a través de las manos.

Varios brotes de infecciones nosocomiales, se han asociado con las manos contaminadas del personal sanitario (166–168). El Shafie et al. (168), investigaron un brote de *A. baumannii* multirresistente y documentaron cepas idénticas en los pacientes, manos del personal y entorno. El brote se dio por finalizado cuando se tomaron las medidas correctivas. Las manos contaminadas del personal sanitario estaban claramente relacionadas con los brotes producidos en pacientes quirúrgicos (166) y neonatales (167).

Por último, varios estudios han demostrado que los patógenos pueden ser transmitidos desde fuentes fuera del hospital a los pacientes a través de las manos del personal. Por ejemplo, un brote de infecciones de heridas quirúrgicas por *S. marcescens* fue rastreado hasta el tarro de crema exfoliante en la casa de una enfermera. Una investigación sugirió que el microorganismo fue transmitido a los pacientes a través de las manos de la enfermera, que llevaba uñas artificiales (169). En otro brote, la *Malassezia pachydermatis* probablemente se transmitió de los perros de compañía de una enfermera a los niños de una sala de cuidados intensivos a través de las manos de la enfermera (170).

## Modelos de transmisión por las manos

### Modelos experimentales

Varios investigadores han estudiado la transmisión de los agentes infecciosos usando diferentes modelos experimentales. Ehrenkranz et al. (107) solicitaron a enfermeras que tocaran, durante 15 segundos, la ingle de un paciente, que se sabía que estaba altamente colonizado por bacilos Gram-negativos, como si tomaran el pulso femoral. Luego se limpiaron las manos mediante el lavado con agua y jabón o usando fricciones con alcohol. Después de limpiar sus manos, tocaron un trozo de catéter urinario con sus dedos y el segmento del catéter se cultivó. El estudio reveló que tocar áreas de piel intacta húmeda transfería suficientes microorganismos a las manos del personal de enfermería para permitir su posterior transmisión al catéter, a pesar de haberse lavado las manos con agua y jabón.

Marples et al. (152) estudiaron la propagación de microorganismos desde telas “donantes” artificialmente contaminadas a telas “receptoras” limpias a través del contacto de las manos y encontraron que el número de microorganismos propagados fue mayor si el tejido donante o las manos se encontraban mojadas. En general, sólo el 0,06% de los organismos obtenidos a partir de la tela contaminada fueron transferidos a la tela receptora mediante el contacto de la mano. Utilizando el mismo modelo experimental, Mackintosh et al. (171) encontraron que *S. saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia spp.* fueron transmitidos en mayor número de los que fue la *Escherichia coli* de una tela contaminada a una tela limpia tras el contacto de las manos. Patrick et al. (56) encontraron que los microorganismos fueron propagados a varios tipos de superficies en mayor número ( $>10^4$ ) desde las manos húmedas que desde las manos que habían sido secadas cuidadosamente. Sattar et al (172) demostraron que la transmisión de *S. aureus* desde los tejidos utilizados habitualmente para las prendas de vestir y ropa de cama a las yemas de los dedos, se producía con mayor frecuencias cuando las yemas de los dedos estaban húmedas.

### Modelos matemáticos

Recientemente, el modelo matemático se ha utilizado para examinar las relaciones entre los múltiples factores que influyen en la transmisión de patógenos en los centros sanitarios. Estos factores incluyen la adherencia al lavado de manos, niveles de competencia de enfermería, frecuencia de ingreso de pacientes colonizados o infectados, las características de los pacientes y las prácticas de uso de antibióticos, por nombrar solo algunos (173). La mayoría de los informes que describen modelos matemáticos de los patógenos nosocomiales han intentado cuantificar la influencia de varios factores en una sola unidad,

como la UCI (174–177). Considerando que tales unidades tienden a albergar a un número relativamente pequeño de pacientes en cualquier momento y las variaciones aleatorias (eventos estocásticos) como el número de pacientes admitidos con un patógeno en particular durante un corto periodo de tiempo, puede tener un impacto significativo en las dinámicas de transmisión. Como resultado, los modelos estocásticos parecen ser los más adecuados para estimar el impacto de varias medidas para el control de infecciones, incluyendo la adherencia a la higiene de manos, en las tasas de colonización e infección (37).

En un modelo matemático de infección por MRSA en una UCI, Seville et al. (174) encontraron que el número de pacientes que fueron colonizados por cepas transmitidas por personal sanitario, fue uno de los determinantes más importantes en las tasas de transmisión. Lo interesante es que encontraron que el aumento de la adherencia al lavado de manos sólo tenía un efecto modesto en la prevalencia de la colonización por MRSA. Su modelo estimaba que si la prevalencia de colonización por MRSA era del 30% sin ninguna higiene de manos, se podría disminuir hasta el 22% si la adherencia al lavado de manos se aumentaba al 40%, y al 20% si la adherencia aumentaba al 60%. Los regímenes antibióticos tienen un impacto relativamente pequeño en este modelo.

En un estudio que utilizó un modelo estocástico de transmisión dinámica, Cooper et al. (178) pronosticaron que mejorar el cumplimiento de la higiene de manos un 20-40% reducía significativamente la transmisión, pero una mejora superior al 40%, tendría un impacto relativamente pequeño sobre la prevalencia de *S. aureus*. Grundmann et al. (177) realizaron una investigación que incluyó cultivos de pacientes en el momento del ingreso en la UCI y dos veces por semana, la frecuencia de contacto entre el personal sanitario y los pacientes, el cultivo de las manos del personal sanitario y la tipificación molecular de los aislamientos por MRSA. Un modelo estocástico predijo que una mejora del 12% en la adhesión a las políticas de higiene de las manos o en los niveles de cohortes podría haber compensado la falta de personal y previno la transmisión durante periodos de hacinamiento o altas cargas de trabajo.

Mientras que los estudios anteriores han proporcionado nuevos puntos de vista sobre la contribución relativa de distintas medidas de control, todos se han basado en supuestos que pueden no ser válidos en todas las situaciones. Por ejemplo, la mayoría de los estudios asumieron que la transmisión de patógenos ocurría sólo a través de las manos del personal sanitario y que las superficies ambientales contaminadas no jugaban ningún papel en la transmisión. Esto último puede no ser cierto para algunos patógenos que pueden permanecer viables en entornos inanimados durante periodos prolongados. Además, la

mayoría, sino todos, los modelos matemáticos se basan en la suposición de que cuando el personal sanitario limpia sus manos, el 100% de los patógenos de interés son eliminados, lo que es poco probable que sea cierto en muchos casos (178). Es importante destacar que, todos los modelos matemáticos descritos anteriormente pronosticaron que las mejoras en el cumplimiento de la higiene de manos reducirían la transmisión de patógenos. Sin embargo, los modelos no se ponen de acuerdo sobre el nivel de adherencia a la higiene de manos necesario para detener la transmisión de patógenos nosocomiales, aunque no tiene porqué ser el mismo para todos los patógenos y todas las situaciones clínicas. En el futuro, el empleo de los modelos matemáticos en la transmisión de patógenos nosocomiales está justificado. Los beneficios potenciales de tales estudios incluyen la evaluación de los beneficios de las diversas intervenciones de control de infecciones y comprender el impacto de las variaciones aleatorias en la incidencia y prevalencia de diversos patógenos (173).

## **Relación entre la higiene de manos y la adquisición de patógenos nosocomiales**

A pesar de la escasez de adecuados ensayos controlados aleatorios, hay pruebas sustanciales de que la antisepsia de manos reduce la incidencia de infecciones nosocomiales (7,179,180). En lo que podría considerarse un ensayo controlado, Semmelweis (179) demostró en 1847 que la tasa de mortalidad entre las madres que daban a luz en la Primera Clínica de Obstetricia en el Hospital de Viena, fue significativamente menor cuando el personal del hospital se lavaba sus manos con una solución antiséptica a cuando se lavaba con agua y jabón.

En la década de los 60, un estudio controlado prospectivo, patrocinado por el Instituto de Salud Nacional de Estados Unidos y el Departamento de Cirugía General comparó el impacto de no lavarse las manos frente al lavado antiséptico de manos, en la adquisición de *S. aureus* entre los niños de un hospital infantil (6). Los investigadores demostraron que los niños atendidos por enfermeras que no se lavaban las manos después de coger a un bebé colonizado por *S. aureus* adquirían microorganismos significativamente más a menudo, y más rápidamente, de lo que lo hicieron los niños que eran atendidos por enfermeras que utilizaban hexaclorofeno para limpiar sus manos entre los contactos infantiles. Este ensayo proporcionó pruebas concluyentes de que cuando se compara no realizar un lavado de manos frente a la limpieza de manos con un agente antiséptico entre contactos de pacientes, la transmisión de patógenos nosocomiales se reduce.

Varios investigadores han encontrado que la adquisición nosocomial de MRSA se reducía cuando el jabón antimicrobiano empleado para la higiene de manos fue cambiado (181,182). En uno de estos estudios, el MRSA endémico en una UCI neonatal fue eliminado siete meses después de la introducción de un nuevo agente antiséptico para las manos (triclosan 1%) sin dejar de realizar todas las medidas de control de infecciones, incluyendo los cultivos de vigilancia activa semanales (181). Otro estudio reportó un brote de MRSA que involucraba a 22 niños en una unidad neonatal (182), en el que a pesar de los intensos esfuerzos, no pudo ser controlado hasta que se añadió un nuevo agente antiséptico (triclosan 0,3%), sin dejar de realizar todas las medidas de control previas, que incluían el uso de guantes y batas y los cultivos de vigilancia. Casewell & Phillips (128) informaron que un aumento de la frecuencia en el lavado de manos entre el personal del hospital estaba asociado con un descenso en la transmisión de *Klebsiella* spp. entre los paciente, sin embargo, no cuantificaron el nivel de lavado de manos entre el personal sanitario.

Además de estos estudios, las investigaciones sobre los brotes han sugerido una asociación entre la infección y la falta de personal o hacinamiento, que se vinculó de manera compatible con la baja adherencia a la higiene de manos. Durante un brote, Fridkin (183) investigó los factores de riesgo para infecciones del torrente sanguíneo asociadas a catéter venoso central. Tras el ajuste por factores de confusión, el ratio enfermera-paciente seguía siendo un factor de riesgo independiente para infecciones del torrente sanguíneo, lo que sugiere que la reducción del personal de enfermería por debajo de un umbral crítico puede haber contribuido a este brote comprometiendo el cuidado adecuado del catéter. Vicca (184) demostró la relación entre la falta de personal y la propagación del MRSA en cuidados intensivos. Estos hallazgos muestran indirectamente que un desequilibrio entre la carga de trabajo y la dotación de personal conducen a que se relajen las medidas de control básicas, como la higiene de manos, y la propagación de microorganismos. Hartbarth et al. (185) investigaron un brote de *Enterobacter cloacae* en una UCI neonatal, mostrando que el número diario de niños hospitalizados estaba por encima de la capacidad máxima de la unidad, lo que resulta en un espacio disponible por niño muy por debajo de las recomendaciones actuales. Paralelamente, el número de personal de guardia fue significativamente inferior al requerido por la carga de trabajo, lo que también dio lugar a que se relajaran las medidas básicas de control de infecciones. La adhesión a las prácticas de higiene de las manos antes del contacto con el dispositivo fue sólo del 25% durante el pico de carga de trabajo, pero aumentó hasta el 70% una vez finalizó la escasez de personal y el hacinamiento. La vigilancia continua mostró que, ser hospitalizado durante este periodo conllevaba un riesgo cuatro veces superior de adquirir una infección nosocomial. Sin

embargo, este estudio no sólo muestra la asociación entre la carga de trabajo y las infecciones, sino que también destaca el paso intermedio: la pobre adherencia a las prácticas de higiene de manos. Robert et al. sugirieron que los ratios enfermera-paciente tres días antes de la infección del torrente sanguíneo, fueron un factor de riesgo independiente para la infección (186).

El hacinamiento y la falta de personal se observan frecuentemente en los centros sanitarios y se han asociado en todo el mundo, particularmente en los países en desarrollo, donde los recursos humanos y materiales limitados contribuyen a la perpetuación de este problema (183–189). El hacinamiento y la falta de personal se documentaron en el mayor brote nosocomial de *Salmonella* spp. jamás registrado en Brasil (190), donde hubo una clara relación entre la falta de personal y la calidad de la atención sanitaria, incluyendo la higiene de manos

## **Métodos para evaluar la eficacia antimicrobiana de los agentes para la fricción y lavado de manos, y las formulaciones para la preparación quirúrgica de las manos**

A excepción de los jabones no medicados, se debe probar la eficacia de cada nueva formulación para la antisepsia de manos para demostrar que: (i) tiene una eficacia superior al jabón normal; o (ii) cumple los requisitos de los estándares de calidad. La formulación, con todos sus ingredientes, debe ser evaluada para asegurar que los humectantes o productos químicos rehidratados, añadidos para garantizar una mejor tolerancia de la piel, no comprometen su actividad antimicrobiana (37).

Son muchos los métodos disponibles actualmente para este propósito, pero algunos son más útiles y relevantes que otros. Por ejemplo, la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de tales formulaciones contra las bacterias no tiene relación directa con el “efecto letal” esperado de tales productos en la realidad. Las condiciones en suspensión, y los test *in vitro* (191) o *ex vivo* (192), no reflejan las de la piel humana. Incluso los test de uso simulado con voluntarios son considerados por algunos como “demasiado controlados”, lo que está propiciando ensayos bajo práctica o de campo aunque en tales ensayos es difícil controlar influencias extrañas. Además, y muy importante, los resultados de las pruebas de campo no nos dicen mucho acerca de la capacidad de una formulación dada para producir una reducción medible en las infecciones nosocomiales transmitidas a través de las manos. Si bien el último planteamiento en este contexto son los ensayos clínicos, éstos son bastante

complicados y caros. Por ejemplo, el análisis de potencia revela que para demostrar una reducción de las infecciones transmitidas por las manos, del 2% al 1%, cambiando a un supuesto mejor agente antiséptico de manos, se requiere de al menos 2.500 pacientes en cada uno de los brazos experimentales en los ajustes preliminares estadísticos de  $\alpha$  (unidireccional) = 0,05 y una potencia de  $1-\beta = 0,09$  (193). Por ello, el número de tales ensayos sigue siendo bastante limitado (26,194,195). Para lograr una reducción del 7% al 5% se requerirían 3.100 pacientes por brazo (cortesía de Michael Kundi). Esto refuerza la utilidad de las pruebas *in vivo* basadas en test de laboratorio para dar la suficiente información económica para evaluar los beneficios potenciales de una formulación en su uso de campo (37).

### Los métodos actuales

Las comparaciones directas de los resultados de las prueba de eficacia *in vivo* del lavado de manos, lavado de manos con antiséptico, fricción de manos con antiséptico y antiseptia quirúrgica de manos no son posibles debido a las amplias variaciones en los protocolos de ensayo. Tales variaciones incluyen: (i) si las manos están deliberadamente contaminadas con bacterias antes del uso de la sustancia de ensayo; (ii) el método usado para contaminar dedos o manos; (iii) el volumen del producto aplicado para la higiene de manos; (iv) el tiempo que el producto está en contacto con la piel; y (v) el método usado para recuperar las bacterias de la piel tras el uso de la formulación de ensayo (37).

A pesar de las diferencias observadas anteriormente, la mayoría de las pruebas se encuentran en una de las dos categorías principales. Una categoría está diseñada para evaluar los agentes empleados en el lavado o fricción de manos, según su capacidad para eliminar los patógenos transitorios de las manos del personal sanitario. En la mayoría de los estudios, las manos de los voluntarios están contaminadas artificialmente con el organismo de prueba antes de aplicar la formulación de ensayo. En la segunda categoría, que se aplica al cepillado prequirúrgico, el objetivo es evaluar la formulación de ensayo por su capacidad para reducir la liberación de la flora natural residente en las manos. El diseño experimental básico de estos métodos se resume a continuación (37).

En Europa, los métodos más utilizados para probar los antisépticos de manos son los del Comité Europeo de Normalización (CEN). En los EE.UU., tales formulaciones están reguladas por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) (196), que se refiere a las normas de la Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM) en su Monografía Provisional Final (MPF) (37).

Cabe señalar que el actual grupo de expertos, recomienda utilizar el término eficacia para referirse al (posible) efecto de la aplicación de una formulación para la higiene de manos, cuando es analizada en el laboratorio o en situaciones *in vivo*. Por el contrario, recomendarían el uso del término efectividad para referirse a las condiciones clínicas bajo las que los productos para la higiene de manos han sido probados, como los ensayos de campo, donde el impacto de una formulación para la higiene de manos se controla en las tasas de infección por transmisión cruzada o resistencia (197).

### ***Métodos de ensayo de la actividad del lavado higiénico de manos y agentes para la fricción de manos (véase el Cuadro I)***

Los siguientes métodos *in vivo* usan la contaminación artificial para probar la capacidad que tiene una formulación para reducir el nivel de microflora transitoria en las manos, sin tener en cuenta la flora residente. Las formulaciones a ensayo son agentes antisépticos de manos para el uso de personal sanitario, exceptuando en el área quirúrgica.

#### **Normas CEN**

En Europa, los métodos más comunes para probar los agentes antisépticos para la higiene de manos son EN 1499 y EN 1500 (198). En resumen, estos métodos requieren 12-15 voluntarios y un cultivo de *E. coli*. Los voluntarios son asignados aleatoriamente en dos grupos donde en un grupo se aplica la formulación a ensayo y, en el otro grupo, otra solución de referencia. En la siguiente vuelta, los dos grupos invierten sus papeles (diseño cruzado).

Si un jabón antiséptico ha sido probado de acuerdo a EN 1499, la reducción media de  $\log_{10}$  de este producto debe ser significativamente superior que la obtenida con el control (jabón suave). Para las fricciones de manos (EN 1500), la reducción media aceptable con la formulación de ensayo debe no ser significativamente inferior a la obtenida con el antiséptico a base de alcohol de referencia (alcohol isopropílico o isopropanol al 60% de volumen).

#### **Normas ASTM**

ASTM E-1174 (199).

Actualmente, los agentes para el lavado o fricción de manos, se evalúan mediante este método en los EE.UU. Los criterios de la MPF para la eficacia son la reducción de  $2\text{-}\log_{10}$  del organismo indicador de cada mano, dentro de los 5 minutos después del primer uso, y una reducción de  $3\text{-}\log_{10}$  del organismo indicador de cada mano dentro de los 5 minutos después del décimo uso (196).



Los criterios de rendimiento en la norma EN 1500 y en la MPF para los antisépticos de base alcohólica no son los mismos (1,196,198). Por lo tanto, una formulación puede pasar el criterio de la MPF, pero puede que no lo cumpla para la norma EN 1500 o viceversa (200). Cabe destacar que aquí el nivel de reducción de los recuentos microbianos necesario para producir una caída significativa en los patógenos nosocomiales transmitidos por las manos, aún no se conoce (1,13).

#### ASTM E-1838 (método de la yema del dedo para virus) (201).

El método de la yema del dedo puede aplicarse con igual facilidad a los agentes para el lavado de manos o fricción de manos. Al probar los agentes para el lavado de manos, también se pueden medir las reducciones en la infectividad del virus después de la exposición a la formulación de prueba únicamente, después del lavado con agua tras el tratamiento y tras el aclarado y secado de las manos. Este método también presenta un riesgo menor a los voluntarios, porque implica la contaminación de áreas más pequeñas y bien definidas en la piel, a diferencia del uso de toda la mano. El método se puede aplicar a los virus tradicionales, así como a los “nuevos” virus como el calicivirus (202).

#### ASTM E-2276 (método de la yema del dedo para bacterias) (203).

Este método es para comprobar el lavado o fricción de manos contra las bacterias. Es similar, en diseño y aplicación, con el método E-1838 (201) descrito anteriormente, para trabajar con virus.

#### ASTM E-2011 (método de toda la mano para virus) (204).

En este método, toda la superficie de ambas manos es contaminada con el virus de ensayo y, sobre ellas, se aplica la formulación de ensayo para el lavado o fricción de manos. La superficie de ambas manos se eluye y los eluatos probados para conocer la viabilidad del virus.

### ***Preparación quirúrgica de manos (véase el Cuadro I)***

En contraste con el lavado de manos higiénico o por fricción, la preparación quirúrgica de manos se dirige en contra de la flora residente de las manos. No se usa ninguna contaminación artificial de las manos en ninguno de los métodos existentes (37).

#### CEN prEN 12791 (preparación quirúrgica de manos) (205)

Esta prenorma europea es comparable con la que describe la norma EN 1500, salvo que el efecto bactericida del producto se prueba: (i) en manos limpias y no contaminadas

artificialmente; (ii) con 18-20 voluntarios; (iii) usa el modelo de manos separadas de Michaud, Mc Grath & Goss para evaluar el efecto inmediato por un lado y el efecto a las 3 horas (para detectar un posible efecto sostenido) por el otro, mientras las manos permanecen enguantadas; (iv) además, emplea un diseño cruzado pero, al contrario de la antisepsia higiénica de manos, las rondas experimentales están separadas por una semana para permitir el crecimiento de nueva flora residente; (v) el procedimiento de la antisepsia de referencia emplea n-propanol al 60% (V/V) en alicuotas de 3 ml, tantas como sean necesarias para mantener las manos húmedas durante 3 minutos; (vi) el producto se utiliza según las instrucciones del fabricante, con una duración máxima de 5 minutos; (vii) los requisitos son que, los efectos inmediato y a las 3 horas, de un producto no deben ser significativamente inferiores a los obtenidos con el antiséptico de manos de referencia; y (viii) si hay una solicitud por actividad sostenida, el producto debe demostrar una liberación bacteriana significativamente inferior que el de referencia a las 3 horas.

ASTM E-1115 (cepillado quirúrgico de manos) (206).

Este método de ensayo está diseñado para medir la reducción de la flora microbiana de la piel. Está destinado a determinar las reducciones microbianas inmediatas y persistentes, después de un solo tratamiento, tratamientos repetitivos, o ambos. También se puede usar para medir la actividad antimicrobiana acumulativa después de tratamientos repetitivos.

En los EE.UU. este método se emplea para evaluar la actividad de los lavados quirúrgicos (196). La MPF requiere que las formulaciones: (i) reduzcan el número de bacterias en  $1\text{-log}_{10}$  en cada mano tras 1 minuto usando el producto y que las células bacterianas contadas en cada mano, no superen los valores de referencia en las 6 horas siguientes; (ii) produzcan una reducción  $2\text{-log}_{10}$  en la flora microbiana de cada mano tras 1 minuto usando el producto y hasta el segundo día; (iii) logren una reducción de  $3\text{-log}_{10}$  de la flora microbiana en cada mano desde el minuto 1 del uso del producto hasta el quinto día, cuando se compara con los valores de referencia establecidos (196).

### **Deficiencias de los métodos de ensayo tradicionales**

#### ***Lavado higiénico de manos y fricción de manos; lavado de manos y fricción de manos del personal sanitario.***

Un obstáculo importante de las pruebas de productos para la higiene de manos para cumplir los requisitos reglamentarios es el costo, que puede ser prohibitivo, incluso para las grandes empresas multinacionales. Ejemplos de ello son las evaluaciones extensas y variadas, como se especifica en la MPF (196). La MPF requiere determinaciones *in vitro* del

espectro antimicrobiano del agente activo, del excipiente y de la formulación final, mediante la evaluación de la CMI con, aproximadamente, 1.000 cepas antimicrobianas, la mitad de la cual deben ser cepas clínicas recién recuperadas. Además, las curvas tiempo-letalidad deben ser establecidas y los estudios sobre el desarrollo de resistencias realizados. *In vivo*, son necesarios al menos 54 voluntarios en cada rama para probar el producto y un control positivo, por lo tanto, un mínimo de 2 x 54 sujetos. Sin embargo, el gasto inmenso sería mucho menor si se utilizaran los mismos sujetos para probar ambas formulaciones simultáneamente en dos muestreos cruzados, como se describe en la norma EN 1499 y EN 1500 (198,207). Los resultados entonces podrían ser comparados intra-individuo, permitiendo así una reducción considerable en el tamaño de la muestra, con la misma potencia estadística (37).

Otro inconveniente de los métodos de ensayo existentes es la duración de los tratamientos de las manos. Los voluntarios requieren de 30 segundos (196) o 1 minuto (207) para el tratamiento de las manos con el producto de higiene para manos o con un control, a pesar de que la duración media de limpieza de las manos por el personal sanitario se ha observado que es inferior a 15 segundos en la mayoría de los estudios (131,208–213). Algunos investigadores han utilizado 15 segundos para lavarse las manos o los protocolos de la antisepsia de manos higiénica. Por lo tanto, casi no existen datos sobre la eficacia de los jabones antimicrobianos en las condiciones en las que se utilizan realmente. Así mismo, algunos métodos aceptados para evaluar agentes antisépticos sin agua para su uso como antiséptico de fricción de manos, como el de referencia en la antisepsia de manos en la norma EN 1500 (198), requieren que se froten las manos con 3 mililitros de alcohol durante 30 segundos, seguido por aplicaciones repetidas del mismo. Una vez más, este tipo de protocolo no refleja los patrones de uso habitual entre el personal sanitario. Sin embargo, se podría argumentar que la equivalencia en la eficacia de un producto a ensayo con el de referencia es más fácil de probar con un contacto duradero con la piel porque, si existe una diferencia en la eficacia, esta será mayor después de tiempos prolongados de aplicación y, por lo tanto, más fáciles de detectar. O, a la inversa, para demostrar la diferencia entre dos tratamientos de muy corta duración, como 15 segundos, los ajustes estadísticos válidos son difíciles y requieren de muestras de gran tamaño, es decir, mayor número de voluntarios. Por lo tanto, un tratamiento de referencia que, por lo general, es elegido por su comparativamente alta eficacia, puede incluir un mayor contacto con la piel que lo habitual en la práctica real, si el objetivo es demostrar la equivalencia del producto a ensayo con muestras económicamente justificables (37).

Otro de los defectos está relacionado con los requisitos de eficacia. La MPF (196), por ejemplo, requiere a un producto para la higiene de manos que tras el lavado de manos *in vivo* del personal sanitario reduzca el número de organismos indicadores de cada mano en 2 log a los 5 minutos tras el primer lavado y en 3 log después del décimo lavado. Este requisito es inadecuado a las necesidades de trabajo de los centros sanitarios por dos motivos. En primer lugar, permitir que una preparación reduzca la liberación bacteriana en sólo 2 log en un plazo de tiempo máximo de 5 minutos parece un requisito excesivamente bajo, ya que incluso con jabón no medicado y agua se alcanza una reducción de 3 log en 1 minuto (1,214). Además, 5 minutos es demasiado tiempo para esperar entre dos pacientes. En segundo lugar, la necesidad de una acción residual del antiséptico de manos en la zona no-quirúrgica ha sido cuestionada (215–217). El actual grupo de expertos no cree que para el referido fin sea necesaria una actividad antimicrobiana residual en el entorno sanitario. Más bien, se requiere un efecto inmediato rápido y fuerte contra un amplio espectro de la flora transitoria para mantener las manos seguras, no sólo en un tiempo muy corto de tiempo, sino también ya después de la primera aplicación de la formulación. Por lo tanto, el requisito de que un producto deba demostrar una actividad más fuerte después del décimo lavado que después del primero, parece ilógico (37).

El análisis estadístico sugerido en la norma EN 1500 no es óptimo porque en caso de que la eficacia del producto sea inferior, la prueba de significación de la diferencia de la reducción media alcanzada con el producto de referencia se plantea como para un ensayo comparativo, en lugar de para un ensayo de equivalencia que sería lo más apropiado (37).

### ***Lavado de manos y fricción de manos quirúrgicos; cepillado de manos quirúrgico; preparación quirúrgica de manos.***

Al igual que en la antisepsia higiénica de manos, un defecto importante de los test de cepillado quirúrgico es el gasto de recursos, asociado con el empleo del modelo de la MPF. Las pruebas requeridas *in vitro* son las mismas descritas en el apartado anterior (véase también Tabla I) (37). Según la MPF, los ensayos *in vivo* requieren un mayor número de voluntarios, que corresponden a:

$$n < 2 s^2 [z_{\alpha/2} + z_b]^2 / D^2$$

donde  $s^2$  es una estimación de la varianza (por ejemplo 1,01),  $z_{\alpha/2}$  = nivel de significación (por ejemplo, para  $p = 5\% \rightarrow 1,96$ ),  $z_b$  = potencia de la prueba (por ejemplo, para  $80\% \rightarrow 0,82$ ), y  $D$  = la diferencia clínicamente significativa para ser descartada (por ejemplo, el 20% de la reducción media del control activo desde el punto de referencia en un momento

específico) (196). Para el ejemplo anterior de las estimaciones y tras realizar los ajustes estadísticos, se requiere un tamaño muestral de 64 sujetos por brazo de ensayo si, por ejemplo, la comparativa con el control activo para cepillado de manos produce una reducción media en un tiempo específico de 2,5 log y el resultado del producto a ensayo se encuentra dentro del 20% de este ( $D=5$ ) (196). Por lo tanto, son necesarios al menos 130 sujetos para probar un producto, junto con un control en el brazo paralelo según sugiere el diseño. Para algunos productos, este número incluso tiene que multiplicarse para realizar pruebas concomitantes del excipiente y tal vez del placebo, para demostrar la eficacia (196). Esto puede añadir hasta un total de 520 o incluso más sujetos, en el caso de que la varianza sea mayor que la citada anteriormente (196). Como se ha mencionado con el modelo de prueba para el lavado de manos del personal sanitario (véase el punto anterior) y se describe en el norma prEN 12791 (205), este enorme número de voluntarios puede ser mucho menor si las pruebas no se hacen con diferentes poblaciones de sujetos para cada brazo, sino que son los mismos voluntarios los que participan en cada brazo, siendo asignados al azar a los distintos componentes de un diseño en cuadrado latino. Las series experimentales pueden llevarse a cabo a intervalos semanales. Los resultados se tratan a continuación como muestras relacionadas con la comparación intra-individual. Además, no está claro por qué se debe de probar en paralelo el excipiente o un placebo, si un producto se demuestra que es equivalente en su eficacia antimicrobiana a un cepillado de control activo. Al paciente y al cirujano no les interesa si un producto es suficientemente eficaz debido solamente a un ingrediente activo o, quizás, además por un efecto sinérgico o incluso antimicrobiano del excipiente. En cualquier caso, es de esperar que para un producto a ensayo, la eficacia que puede presentar para ser equivalente a un cepillado de control activo, será superior que la de un placebo. Si no fuera así, el control activo ha sido mal elegido (37).

En contraste con el requisito de la norma prEN 12791, donde un efecto sostenido (o persistente) del lavado quirúrgico es opcional, el modelo de la MPF requiere un producto que posea esta característica (véase más arriba). Tanto si el efecto sostenido (o persistente) es necesario como si no, no es una cuestión de debate. Sin embargo, es difícil de entender porque se requiere aumentar la eficacia del cepillado desde el primer hasta el quinto día de uso permanente. Consideraciones éticas sugieren que el primer paciente del lunes cuando los requerimientos de la reducción bacteriana inmediata desde el punto de referencia es de 1 log, debe ser tratado con las mismas precauciones de seguridad que los pacientes operados el siguiente viernes cuando, de acuerdo al requisito de la MPF, la reducción logarítmica debe ser de 3,0. De hecho, un efecto inmediato comparable a la última reducción es alcanzable tras el primer cepillado quirúrgico de manos después de un periodo de no

realización de fricciones de manos con productos que contengan altas concentraciones de alcoholes alifáticos de cadena corta, tales como etanol, iso-propanol y n-propanol (1). Con su fuerte eficacia bactericida, la importancia de un efecto sostenido es cuestionable, ya que el crecimiento de la flora cutánea tarda varias horas incluso sin el efecto explícitamente sostenido de los alcoholes.

En relación con el análisis estadístico de la norma prEN 12791, el modelo sugerido actualmente de un ensayo comparativo ya no está al día, debiendo ser cambiado por un modelo de equivalencia. La última directiva CDC/HICPAC para la higiene de manos en centros sanitarios (7) considera un fallo que en los modelos de ensayo de laboratorio *in vivo* se empleen voluntarios como sustitutos de los trabajadores sanitarios, dado que su flora de las manos puede no reflejar la flora microbiana de las manos del personal que trabaja en centros sanitarios. Sin embargo, este argumento es sólo válido para test de cepillado quirúrgico porque para evaluar las preparaciones para el lavado o fricción higiénica de manos, los protocolos incluyen la contaminación artificial de la mano. Además, el espectro antimicrobiano de un producto deben conocerse a partir de los resultados de los ensayos *in vitro* precedentes (37).

### Nuevos métodos para el futuro

Se necesitan más estudios para identificar las modificaciones necesarias para los métodos de ensayo existentes y evaluar las revisiones de los protocolos, para diseñar protocolos estandarizados de forma que se obtuvieran puntos de vista más realistas sobre la colonización microbiana, y para estimar mejor el riesgo de transmisión de bacterias y transmisión cruzada (62).

En resumen, se necesitan las siguientes mejoras a los métodos de prueba tradicionales:

- Los pocos protocolos existentes deben adaptarse para que puedan inferir conclusiones comparables acerca de la eficacia de los productos para la higiene de manos.
- Los protocolos deben ser actualizados de modo que se pueda realizar un gasto económicamente justificable.
- Para ser plausible, los resultados de los modelos de ensayo *in vivo*, deben demostrar que son realistas en condiciones prácticas, como la duración de la aplicación, la elección del organismo de prueba o el uso de voluntarios.

- Los requisitos de eficacia no deben formularse con vistas a los productos disponibles en el mercado, sino teniendo en consideración las necesidades identificadas objetivamente.
- Los estudios *in vivo* en el laboratorio deben ser organizados como estudios clínicos, es decir, como estudios de equivalencia y no como estudios comparativos.
- Los protocolos para los ensayos controlados de campo deben ayudar a garantizar que los productos de higiene de manos se evalúan bajo las más plausibles, sino más realistas, condiciones.

No hay duda de que se necesitan con urgencia los resultados de estudios clínicos bien controlados para generar datos epidemiológicos sobre la influencia, que varios grupos de productos para la higiene de manos, tienen sobre la frecuencia de las infecciones nosocomiales y la transmisión cruzada de patógenos resistentes a antimicrobiana, es decir, pruebas de la efectividad clínica (37).

## Revisión de los preparados empleados para la higiene de manos

### Agua

El lavado de manos rutinario, per se, elimina la suciedad, materia orgánica y microorganismos transitorios. El propósito de la rutina del lavado de manos en el cuidado del paciente, es eliminar la contaminación microbiana adquirida por contacto reciente con pacientes infectados o colonizados o con fuentes ambientales, y para eliminar la materia orgánica de las manos (37).

El agua es un buen disolvente para un gran número de sustancias y, a menudo, se le conoce como el disolvente universal. Es estable, tiene un punto de ebullición alto y tiene muy alta tensión superficial, una característica importante para la limpieza de las manos sucias. Debido a sus propiedades, el agua no puede eliminar directamente algunas sustancias como grasas, aceites y proteínas que son componentes orgánicos. Para una limpieza eficaz de las manos sucias, es esencial que la suciedad se disuelva o quede suspendida en el agua para que pueda ser arrastrada. Los jabones y detergentes son capaces de disolver las grasas y aceites: los separan y dispersan en el agua. Los jabones también aseguran que la suciedad se mantenga en suspensión de forma que puedan ser eliminados con el agua. Así, el agua por sí sola no es adecuada para la limpieza de las manos sucias, se requiere aplicar un jabón o detergente seguido del lavado con agua. Durante el lavado de

manos, la fricción y el aclarado cuidadoso son los factores más importantes para unas manos limpias. El uso de un jabón medicado o natural parece tener más o menos el mismo efecto en la prevención de las enfermedades diarreicas, infecciones del tracto respiratorio superior o el impétigo en los niños en el entorno comunitario (4,5). El efecto de limpieza es probablemente, el resultado de la fricción mientras se extiende el producto sobre las manos y el posterior aclarado (37).

### ***Relación entre agua contaminada e infecciones***

El agua potable puede estar contaminada por algún tipo de microorganismo: bacterias, virus, helmintos y protozoos patógenos. La Tabla II enumera los microorganismos que han sido documentados como causantes o sospechosos de causar brotes de enfermedades transmitidas por el agua, indicando su importancia para la salud, su persistencia en el suministro de agua y su infectividad relativa (218).

### ***Contaminación del agua e infecciones asociadas a cuidados de salud***

Puede ocurrir que el suministro del agua a una institución sanitaria se contamine, existiendo una evidencia que vincula las infecciones nosocomiales al agua del hospital o el agua en el punto de uso. Se debe prestar atención para garantizar que las aguas residuales se separen del suministro de agua del hospital. Mediante una búsqueda en Medline, los investigadores identificaron 43 brotes asociados con el cuidado de la salud, donde los microorganismos fueron transmitidos por el agua, de los cuales 29 tuvieron evidencia epidemiológica y molecular para vincular el brote con el sistema de agua del hospital (219). Las fuentes de los microorganismos eran los tanques de almacenamiento de agua del hospital, el agua corriente y las duchas (220–222). La causa de la mala calidad del agua es la acumulación de biofilm, la corrosión de los sistemas de distribución y los tanques o el estancamiento de agua. Los biofilms son crecimientos microbianos que se adhieren a las superficies a través de la baba que segregan, pudiendo acumularse en cualquier superficie expuesta al agua y las bacterias. Entre los organismos identificados en el agua del hospital y asociados con infecciones nosocomiales se encontraban *Legionella spp.*, *P. aeruginosa* (223,224), *Stenotrophomonas maltophilia* (225), *Mycobacterium avium* (226), *M. fortuitum* (227), *M. chelonae* (228), *Fusarium spp.* (229) y *Aspergillus fumigatus* (230). Una de las vías de transmisión de estos microorganismos desde el agua al paciente puede ser a través de las manos del personal sanitario, si se usa el agua contaminada para lavárselas (37).

### ***Calidad del agua***

Las características físicas, químicas y bacteriológicas del agua utilizada en las instituciones sanitarias deben cumplir con las normas locales (218). La institución es



responsable de la calidad del agua una vez entra en el edificio. En Europa, los requisitos para la calidad del agua en los edificios públicos están regulados por la Directiva Europea 98/83/CE, de 3 de noviembre de 1988 “Agua para el consumo humano”. En Francia, las directrices nacionales para los centros sanitarios han propuesto recientemente normas microbiológicas para la calidad del agua (37).

Si el agua no es potable o se sospecha que está contaminada, se pueden tomar medidas para tratarlas para uso médico a través de tratamientos físicos o químicos (218). Estas incluyen un proceso de filtración para eliminar las partículas, incluyendo protozoos y una etapa de desinfección para reducir el número de patógenos. Los desinfectantes incluyen cloro, monoclорamina, dióxido de cloro, ozono y radiaciones ultravioletas (218). El cloro es el desinfectante más práctico de usar, el ozono tiene unos altos costos de instalación y la monoclорamina actúa más lentamente contra las bacterias, protozoos y virus de lo que lo hace el cloro. Es habitual aplicar un desinfectante tras el tratamiento primario: primero, para prevenir o limitar el recrecimiento de microorganismos en el sistema de distribución; y segundo, para inactivar cualquier microorganismo que pueda entrar en el sistema a través de la contaminación. Los materiales que entran en contacto con el agua para el consumo, son conocidos por estimular el crecimiento microbiano. Los microorganismos pueden entrar en el sistema de distribución a través de conexiones cruzadas, roturas en las tuberías o dispositivos de prevención de retorno defectuosos. Sin embargo, los residuos de los desinfectantes convencionales son ineficaces contra la contaminación masiva (231). La radiación ultravioleta es una alternativa potencial al cloro para la desinfección de los sistemas de agua pequeños, siendo adecuada para la desinfección del agua que no tiene materia libre en suspensión, turbidez o color. Sin embargo, la desventaja de este método es que no deja residuo (232).

Muchos países en desarrollo no tienen agua potable en los centros sanitarios. Incluso, si el agua utilizada para el lavado de manos debe ser idealmente potable, es importante destacar que no hay evidencias hasta la fecha de que el lavado de manos con agua no potable conlleve un nivel de contaminación mayor de las manos. Un estudio realizado en una zona rural de Bangladesh donde, por razones de escasos recursos, el suministro de agua más segura y la mejora del saneamiento no era posible (233), se evidenció que la educación y la promoción del lavado de manos con agua y jabón reducía significativamente la propagación de enfermedades diarreicas en todos los grupos de edad (233). En Pakistán, la promoción de la higiene de manos en el entorno comunitario también redujo la carga de enfermedades infecciosas (4).

Sin embargo, si el jabón aplicado en las manos tiene que ser aclarado con agua que puede estar contaminada, el jabón antibacteriano por si solo puede no ser suficiente. Se pueden tomar medidas para reducir el riesgo de infección causada por el lavado de manos con agua no potable, que incluyen el uso de antisépticos para la fricción de manos, el tratamiento del agua por filtración o desinfección, y restringir el uso del agua del grifo en poblaciones de alto riesgo (234). En zonas del mundo donde el suministro de agua es intermitente, la contaminación del agua es mayor problema que en aquellas zonas donde el suministro es suficiente a través de los sistemas de distribución por tuberías. En estas situaciones, el agua se suele almacenar en contenedores en el centro sanitario. El agua incorrectamente almacenada o dispensada puede contaminarse por varios patógenos humanos, incluyendo bacterias entéricas, estafilococos, levaduras y parásitos, además de organismos acuáticos. Métodos prácticos para garantizar la seguridad microbiológica del agua suministrada de contenedores, incluye filtración y desinfección en el punto de uso (235).

Además, los contenedores para el almacenamiento de agua deben vaciarse y limpiarse con frecuencia, e invertirse para secarse. La frecuencia de limpieza dependerá de la capacidad del contenedor pero no hay recomendaciones específicas hasta la fecha. El contacto directo o indirecto entre las manos y el agua almacenada debe evitarse en todo momento, y los contenedores deben estar siempre cubiertos (37).

### *Temperatura del agua*

¿Afecta la temperatura del agua al lavado de manos? Un informe para determinar el impacto de diferentes temperaturas entre 5°C (40°F) y 50°C (120°F) en la eliminación de diferentes tipos de bacterias mostraron que la temperatura no tiene ningún efecto en la reducción de la flora transitoria o residual (236). Se examinó la flora residente y transitoria de los voluntarios, quienes se lavaron las manos con diferentes temperaturas usando una cantidad específica de jabón normal líquido. Se enjabonaron las manos durante 15 segundos y se las enjuagaron durante 10 segundos. Ni el uso de jabón medicado, ni la temperatura del agua tuvieron un efecto significativo en la eliminación de bacterias. Al parecer, el tiempo de contacto y la fricción son aspectos más importantes que la temperatura. Incluso, si el agua caliente ayuda a disolver la suciedad y los residuos oleosos en suspensión, un lavado rápido con jabón medicado, es menos efectivo que un lavado de 30 segundos con agua fría y sin jabón (237).

Dado que los datos comunicados no se incluyen en las publicaciones revisadas por pares, las consiguientes consideraciones se basan en una evidencia limitada. Sin embargo, la temperatura del agua parece no ser una cuestión crítica en el lavado de manos (37).

### **Secado de manos**

El secado de manos es un paso esencial en la limpieza de manos y debe realizarse de tal manera que no se produzca la recontaminación de las manos. Las manos húmedas, como un ambiente húmedo en comparación con un ambiente seco, ofrecen mejores condiciones para la transmisión de microorganismos (56). Un secado cuidadoso de las manos es un factor crítico que determina el nivel de transferencia bacteriana asociada con el contacto después de la limpieza de manos. Esto podría suponer una contribución significativa a la mejora de las prácticas de higiene de las manos en los centros clínicos y de salud pública (56).

Los métodos de secado de manos comunes incluyen toallas de papel, toallas de tela y secadores de aire caliente. Un informe comparó cuatro métodos de secado de manos: toallas de tela en un rodillo; toallas de papel dejadas sobre el lavabo; secador de aire caliente; y dejando que las manos se sequen por evaporación (238); no se observó ninguna diferencia significativa en la eficacia de los métodos empleados en este estudio. Sin embargo, debe evitarse reutilizar o compartir toallas por el riesgo de infección cruzada (239). En un estudio comparativo para probar la eficiencia del secado de manos para eliminar las bacterias de las manos lavadas, resultó peor secar las manos con aire caliente que con una toalla de papel (240). Además, los secadores de aire pueden resultar menos prácticos porque se necesita más tiempo para lograr secar las manos (240), con el posible impacto negativo en el cumplimiento de la higiene de manos, y por la pulverización de patógenos acuáticos (241). Idealmente el secado de manos debe realizarse usando toallas de papel individuales. Sin embargo, el recuento de bacterias en la palma y dedos después del lavado de manos, puede no diferir significativamente tras secarse con una toalla de papel (240).

Cuando se usan toallas limpias o desechables, es importante acariciar la piel en vez de frotarla para evitar agrietarla. La escoriación de la piel puede provocar que las bacterias colonicen la piel y la posible propagación de los virus transmitidos por la sangre, así como otros microorganismos (60). El dolor en las manos también puede provocar una disminución del cumplimiento de las prácticas para la higiene de manos (37).

### **Jabón simple (no antimicrobiano)**

Los jabones son productos a base de detergentes, que contienen ácidos grasos esterificados y sodio o hidróxido de potasio. Están disponibles en diversas formas, incluyendo pastilla de jabón, tejido, hoja y preparaciones líquidas. Su actividad limpiadora se puede atribuir a las propiedades de sus detergentes, que resultan en la eliminación de los lípidos y suciedad adherida, y diversas sustancias orgánicas de las manos. Los jabones simples tienen una mínima, si la tienen, actividad antimicrobiana. Sin embargo, el lavado de

manos con jabón simple puede eliminar la flora transitoria de baja adherencia. Por ejemplo, lavarse las manos con jabón simple y agua durante 15 segundos reduce el recuento bacteriano en la piel entre 0,6-1,1 log<sub>10</sub>, mientras que lavárselas durante 30 segundos reduce el recuento entre 1,8-2,8 log<sub>10</sub> (1). En varios estudios, sin embargo, el lavado de manos con jabón simple no pudo eliminar los patógenos de las manos del personal sanitario (45,107,242). Lavarse las manos con jabón simple puede conllevar un incremento paradójico del recuento bacteriano de la piel (70,72,243,244). Dado que los jabones pueden estar asociados con una irritación considerable de la piel y sequedad (70,72,245), se añaden humectantes a las preparaciones de jabón para reducir su propensión a la irritación. Ocasionalmente, los jabones simples se contaminan lo que puede conllevar a la colonización de las manos del personal sanitario con bacilos Gram-negativos (163). Aún así, hay algunas pruebas de que el riesgo real de transmisión de microorganismos a través del lavado de manos con pastillas de jabón es insignificante (246,247).

### Soluciones antisépticas

Actualmente existen, principalmente, cinco productos comercializados para realizar la antisepsia preoperatoria (12,13,248–250) que contienen alcohol, clorhexidina, yodo/yodóforos, paraclorometaxilenol y triclosán (tabla 1).

**Tabla 1.**

Mecanismos y espectro de actividad de los agentes antisépticos comúnmente empleados para la preparación de la piel preoperatoria y el cepillado quirúrgico

Agente	Mecanismo de acción	Bacterias Gram+	Bacterias Gram-	Mtb	Hongos	Virus	Rapidez de acción	Actividad residual	Toxicidad	Usos
Alcohol	Desnaturaliza proteínas	E	E	G	G	G	Más rápido	No	Secado, volátil	SP, SS
Clorhexidina	Rompe la membrana celular	E	G	P	F	G	Intermedia	E	Ototoxicidad, queratitis	SP, SS
Yodo/ Yodóforos	Oxidación/Sustitución por yodo libre	E	G	G	G	G	Intermedia	Mínimo	Absorción por piel con posible toxicidad e irritación de la piel	SP, SS
PCMX	Rompe la pared celular	G	F*	F	F	F	Intermedio	G	Necesarios más datos	SS
Triclosan	Rompe la pared celular	G	G	G	P	U	Intermedia	E	Necesarios más datos	SS

Abreviaturas: E, Excelente; F, Favorable; G, Bueno; P, Pobre; U, desconocido; Mtb, *Mycobacterium tuberculosis*; PCMX, Para-chloro-meta-xilenol; SP, Preparación de la piel; SS, Lavado quirúrgico.

\*Favorable, excepto para *Pseudomonas* spp; actividad mejorada por la adición de agentes gelatinosos tipo EDTA.

## Alcoholes

La mayoría de los antisépticos de manos de base alcohólica contienen etanol, isopropanol, n-propanol o una combinación de estos productos. Las concentraciones se dan como porcentaje de volumen (=ml/100ml), abreviado % V/V; porcentaje de peso (=g/100g), abreviado % m/m; o porcentaje de peso/volumen (=g/100ml), abreviado % m/V. Los estudios de alcoholes han evaluado tanto alcoholes individuales en concentraciones variables (la mayoría de los estudios), combinaciones de dos alcoholes o soluciones de alcohol que contienen pequeñas cantidades de hexaclorofeno, compuestos de amonio cuaternario, povidona yodada, triclosán o gluconato de clorhexidina (80,144,251–270).

La actividad antimicrobiana de los alcoholes resulta de su capacidad para desnaturalizar las proteínas (271). Las soluciones de alcohol que contienen 60-80% de alcohol son las más efectivas, sin embargo, con concentraciones más altas son menos potentes (272,273). Esta paradoja resulta del hecho de que las proteínas no se desnaturalizan fácilmente en ausencia de agua (271). El contenido de alcohol de las soluciones puede ser expresado como porcentaje en peso (m/m), que no se ve afectado por la temperatura u otras variables, o como un porcentaje en volumen (V/V), que puede verse afectado por la temperatura, la gravedad específica y la reacción de la concentración (274). Por ejemplo, alcohol al 70% en peso es equivalente a 76,8% en volumen si se prepara a 15°C, o a 80,5% si se prepara a 25°C. Las concentraciones de alcohol en los antisépticos para la fricción de manos normalmente están expresadas en porcentaje de volumen (196).

Los alcoholes tienen una excelente actividad germicida *in vitro* contra las bacterias vegetativas Gram-positivas y Gram-negativas (incluidos los agentes patógenos resistentes a múltiples fármacos tales como MRSA y VRE), *M. tuberculosis* y una variedad de hongos (271–273,275–280). Sin embargo, tienen prácticamente nula actividad contra esporas bacterianas, ooquistes protozoarios, y una actividad muy pobre contra algunos virus sin envoltura (no lipofílicas). En ambientes tropicales, esta falta de actividad contra los parásitos es una cuestión que inquieta y se está estudiando la posibilidad de promover el empleo extensivo de productos para la fricción de las manos a base de alcohol, en lugar de lavarse las manos, lo que, al menos, puede garantizar un efecto de eliminación mecánica (37).

Algunos virus envueltos (lipofílicos) tales como el virus del herpes simple, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de la influenza, VRS y el virus vaccina son susceptibles a los alcoholes cuando se han probado *in vitro* (271,281,282). Por razones

éticas, no se han realizado ensayos *in vivo* con el VIH. Otros virus envueltos que son algo menos susceptibles, pero que son matados con alcohol al 60-70%, incluyen virus de la hepatitis B y, probablemente, el virus de la hepatitis C (283). En un modelo con tejido porcino utilizado para estudiar la actividad antiséptica, se descubrió que el etanol al 70% y el isopropanol al 70% reducían los títulos de los bacteriófagos envueltos con más eficacia que un jabón antimicrobiano que contenía gluconato de clorhexidina al 4% (191).

Numerosos estudios han documentado la actividad antimicrobiana *in vivo* de los alcoholes. Los primeros estudios cuantitativos sobre el efecto de la fricción de manos con antiséptico establecieron que los alcoholes reducían eficazmente el recuento bacteriano de las manos (23,272,276,284). Generalmente, el promedio de las reducciones logarítmicas en la liberación de bacterias de ensayo en las manos contaminadas artificialmente es de 3,5  $\log_{10}$  después de una aplicación de 30 segundos, y de 4,0-5,0  $\log_{10}$  tras una aplicación de 1 minuto (1). En 1994, la MPF de la FDA clasificó el etanol 60-95% como un agente activo generalmente seguro y eficaz para el uso de la higiene antiséptica de manos o productos para el lavado de manos del personal sanitario (196). Aunque la MPF consideró que no había datos suficientes para clasificar el isopropanol 70-91,3% tan efectivo, el isopropanol 60% fue posteriormente adoptado en Europa como el estándar de referencia contra el cual son comparados los productos para la fricción de manos de base alcohólica (198). Los alcoholes son rápidamente germicidas cuando se aplican en la piel, pero no tiene una actividad persistente (residual) apreciable. Sin embargo, el recrecimiento bacteriano en la piel se produce lentamente tras el uso de antisépticos para las manos de base alcohólica, presumiblemente por los efectos sub-letales que los alcoholes tienen en algunas bacterias de la piel (285,286). Añadir clorhexidina, compuestos de amonio cuaternario, octenidina o triclosan a las formulaciones a base de alcohol puede producir una actividad residual (1). Una actividad sinergista de un humectante (octoxyglycerine) y conservantes han producido una actividad prolongada contra patógenos transitorios (287).

Los alcoholes, cuando usan las concentraciones presentes en los productos de base alcohólica empleados para la fricción de manos, también tienen actividad *in vivo* contra varios virus no envueltos (37). Por ejemplo, los estudios *in vivo* empleando el modelo de la yema del dedo han demostrado que el isopropanol al 70% y el etanol al 70% son más efectivos que el jabón medicado o el jabón no medicado en la reducción de los títulos de rotavirus en las yemas de los dedos (239,288). Un estudio más reciente utilizando los mismos métodos de ensayo evaluó un producto comercialmente disponible que contenía etanol al 60% y descubrió que reducía los títulos inefectivos de tres virus no envueltos (rotavirus, adenovirus y rinovirus) entre 3 y 4 logs (289). Otros virus no envueltos como el

de la hepatitis A y enterovirus (por ejemplo, poliovirus) pueden requerir de alcohol al 70-80% para ser inactivados de forma fiable (290,291). Sin embargo, vale la pena señalar que tanto el etanol al 70% y un producto de espuma de etanol al 62% con humectantes redujeron los títulos de hepatitis A en toda la mano o yemas de los dedos en mayor medida que un jabón no medicado, y ambos reducen los recuentos virales en las manos en la misma medida que un jabón antimicrobiano que contiene gluconato de clorhexidina al 4% (292). El mismo estudio encontró que tanto el etanol al 70% como la espuma de etanol al 62% demostraron una mayor actividad virucida contra el poliovirus que cualquier jabón no antimicrobiano o jabón que contenga gluconato de clorhexidina al 4% (292). Sin embargo, dependiendo de la concentración de alcohol, el tiempo y la variante viral, el alcohol puede no ser efectivo contra el virus de la hepatitis A y otros virus no lipofílicos. Schurmann concluyó que la inactivación de los virus sin envoltura está influenciada por la temperatura, la proporción de volumen de antiséptico para el virus y la carga protéica (293). Varias soluciones de alcohol al 70% (etanol, propan-1-ol, propan-2-ol) fueron probadas contra un sustituto del norovirus, y una exposición de 30 minutos a etanol demostró una actividad virucida superior a los otros (294). En un estudio experimental reciente, los productos a base de alcohol etílicos mostraron unas reducciones significativas frente al sustituto a ensayo en los virus humanos sin envoltura; sin embargo, la actividad no fue superior a los controles no antimicrobianos o agua del grifo (295). En general, el etanol tiene una mayor actividad contra los virus que el isopropanol. Además, los estudios *in vitro* e *in vivo* de ambas formulaciones de base alcohólica y jabones antimicrobianos están garantizados para tener el mínimo nivel de actividad virucida que se requiere para interrumpir la transmisión del virus por contacto directo en los centros sanitarios (37).

Los alcoholes no son buenos agentes de limpieza, y su uso no está recomendado cuando las manos están sucias o visiblemente contaminadas con materiales proteicos. Sin embargo, cuando cantidades relativamente pequeñas de material proteico (por ejemplo, la sangre) están presentes, el etanol y el isopropanol pueden reducir los recuentos bacterianos viables en las manos (296), pero no eliminan la necesidad de lavarse las manos con agua y jabón cada vez que se produce tal contaminación (179). Algunos estudios han examinado la capacidad de los alcoholes para prevenir la transferencia de patógenos nosocomiales utilizando modelos experimentales de transmisión de patógenos (55,107,171). Ehrenkrantz et al. (107) encontraron que, en el 17% de los experimentos tras aclararse las manos con unas fricciones de antiséptico de base alcohólica, se transfirieron bacilos Gram-negativos de la piel colonizada de un paciente al material del catéter a través de las manos del personal de enfermería. Por el contrario, la transmisión de los organismos sólo se produjo en el 92%

de los experimentos tras el lavado de manos con agua y jabón. Este modelo experimental sugiere que cuando las manos del personal sanitario están fuertemente contaminadas, las fricciones de manos con base alcohólica pueden prevenir la transmisión de patógenos con mayor eficacia que el lavado de manos con agua y jabón.

El cuadro III resume una serie de estudios que han comparado productos a base de alcohol, con los jabones ordinarios o antimicrobianos para determinar cuál es más efectivo para el lavado de manos estándar o la antisepsia de manos de los trabajadores sanitarios (107,133,144,214,257-263,269,270,297-305).

La eficacia de los productos de higiene de las manos a base de alcohol se ve afectada por una serie de factores, incluyendo el tipo de alcohol usado, la concentración de alcohol, el tiempo de contacto, el volumen de alcohol usado, y si las manos están húmedas cuando se aplica el alcohol. Los volúmenes pequeños (0,2 a 0,5 ml) de alcohol aplicados a las manos no son más efectivos que lavarse las manos con agua y jabón (55,171). Larson et al. (155) documentaron que 1 ml de alcohol es significativamente menos efectivo que 3 ml. El volumen ideal de producto a aplicar en las manos no se conoce, y puede variar para diferentes formulaciones. En general, sin embargo, si las manos se sienten secas después de haber sido frotadas menos de 10-15 segundos, es probable que se haya aplicado un volumen insuficiente de producto. Las toallitas impregnadas con alcohol contienen sólo una pequeña cantidad de alcohol y no son mucho más efectivas que el lavado de manos con agua y jabón (55,306,307).

Los productos de base alcohólica para las fricciones de manos para uso hospitalario están disponibles como soluciones (con baja viscosidad), geles y espumas. Se dispone de pocos datos sobre la eficacia de varias formulaciones. Un pequeño ensayo de campo encontró que un gel de etanol fue algo menos efectivo que una solución de etanol comparable, en la reducción de los recuentos bacterianos de las manos del personal sanitario (308).

Estudios recientes encontraron resultados similares, demostrando que las soluciones reducen los recuentos bacterianos en las manos en un grado significativamente mayor, que los geles probados (200,309). La mayoría de los geles mostraron resultados más cercanos a un lavado simple de manos durante 1 minuto que a la antisepsia de referencia de 1 minuto (310). Las nuevas generaciones de formulaciones de gel se han planteado con una mayor eficacia antibacteriana de las formulaciones anteriores (310). Se necesitan más estudios para determinar la eficacia relativa de las soluciones y geles de base alcohólica para reducir la transmisión de los patógenos nosocomiales. Además, vale la pena considerar que el



cumplimiento probablemente se dé una mayor importancia al cumplimiento, por lo que si un gel con menor actividad *in vitro* se utiliza con más frecuencia, se espera que el resultado general sea mejor (37).

El frecuente uso de las soluciones de base alcohólica para la antisepsia de la mano tiende a causar la sequedad de la piel a menos que añadan humectantes u otros agentes acondicionadores de la piel a las formulaciones. Por ejemplo, el efecto de sequedad del alcohol puede reducirse o eliminarse añadiendo glicerol al 1-3% u otros agentes acondicionadores de la piel (69,251,252,257,270,285,297,311,312). Por otra parte, en estudios prospectivos, las soluciones o geles de base alcohólica que contenían humectantes causaban menos irritación y sequedad cutánea que los jabones o detergentes antimicrobianos probados (70,245,313,314). Estos estudios, que se realizaron en el ámbito clínico, usaron una variedad de métodos subjetivos y objetivos para evaluar la irritación y sequedad de la piel. Otros estudios de este tipo buscan justificar si productos con diferentes formulaciones producen resultados similares.

Aunque las soluciones para la fricción de manos de base alcohólica que contiene humectantes sean bien toleradas pueden causar una sensación de picor transitorio donde haya piel lesionada (cortes, abrasiones). Las preparaciones para la fricción de manos de base alcohólica con fragancias fuertes pueden ser mal toleradas por el personal sanitario que tenga alergias respiratorias. La dermatitis de contacto alérgica o síndrome de urticaria de contacto causadas por la hipersensibilidad al alcohol o a varios de los aditivos presentes en la soluciones para la fricción de manos con base alcohólica, se produce raramente (81,82,95).

Una reciente revisión sistemática de las publicaciones entre 1992 y 2002, con una adecuada calidad metodológica sobre la eficacia de las soluciones de base alcohólica para la higiene de manos, mostró que frotarse las manos con soluciones de base alcohólica puede eliminar microorganismos con mayor efectividad, requiere menos tiempo e irrita la piel con menos frecuencia que el lavado de manos con jabón u otros agentes antisépticos y agua (315). La disponibilidad inmediata de soluciones alcohólicas, aumentó el cumplimiento de la higiene de manos entre el personal sanitario (315-318).

Los alcoholes son inflamables, por lo que el personal sanitario que manipule las preparaciones alcohólicas debe respetar unas normas de seguridad. Debido a que los alcoholes son volátiles, los contenedores deben ser diseñados de manera que se minimice la evaporación y conserve la concentración inicial. Rara vez se ha reportado contaminación de soluciones alcohólicas, aunque un informe documentó una pseudo-epidemia de

infecciones causadas por la contaminación de alcohol etílico por esporas de *Bacillus cereus* (319).

### **Clorhexidina**

El gluconato de clorhexidina, una bisbiguanida catiónica, fue desarrollado en el Reino Unido a principios de 1950 y se introdujo en los EE.UU. en los años '70 (13,83). La base de la clorhexidina apenas es soluble en agua, pero la forma de digluconato sí lo es. La actividad antimicrobiana de la clorhexidina parece ser atribuible a la unión, y posterior alteración de las membranas citoplasmáticas, dando como resultado la precipitación de los contenidos celulares (1,13). La actividad antimicrobiana inmediata de la clorhexidina es más lenta que la de los alcoholes. Tiene una buena actividad frente a bacterias Gram-positivas, algo menos de actividad frente a bacterias Gram-negativas y hongos, y mínima actividad contra micobacterias (1,13,83). La clorhexidina no es esporicida (1,83). Tiene una actividad *in vitro* contra los virus del herpes simple, VIH, citomegalovirus, influenza y VSR, pero su actividad es significativamente menor contra los virus no envueltos, tales como el rotavirus, adenovirus y enterovirus (281,282,320). La actividad antimicrobiana de la clorhexidina no se ve seriamente afectada por la presencia de material orgánico, incluyendo la sangre. Debido a que la clorhexidina es una molécula catiónica, su actividad puede verse reducida por jabones naturales, diversos aniones inorgánicos, humectantes no orgánicos y cremas para las manos que contengan agentes emulsionantes aniónicos (13,83,321). El gluconato de clorhexidina se ha incorporado a una serie de preparaciones para la higiene de manos. Las formulaciones acuosas o detergentes contienen 0,5%, 0,75%, o 1% de clorhexidina y son más eficaces que el jabón normal, pero menos que las preparaciones antisépticas detergentes que contienen 4% de gluconato de clorhexidina (285,322). Las preparaciones con gluconato de clorhexidina al 2% son ligeramente menos eficaces que las que contienen clorhexidina al 4% (323).

La clorhexidina tiene una significativa actividad residual (80,257,265-267,285,299,322). La adición de bajas concentraciones (0,5-1%) de clorhexidina a preparaciones de base alcohólica aumenta de manera significativa la actividad residual del alcohol comparado con si solo (267,285). Cuando se utiliza como se recomienda, la clorhexidina tiene un buen registro de seguridad (83). La poca, si hay alguna, absorción del compuesto se produce a través de la piel. Se debe tener cuidado para evitar el contacto con los ojos al usar preparados con concentraciones de clorhexidina al 1% o superiores, dado que puede causar conjuntivitis o graves daños en la córnea. Su ototoxicidad impide su uso en la cirugía que implica al oído interno y medio. Así mismo, el contacto directo con el tejido cerebral y meninges debe ser evitado. La frecuencia de la irritación de la piel depende de la

concentración, con productos que contengan el 4%, aumentan las probabilidades de causar dermatitis cuando se utiliza con frecuencia para el lavado de manos antiséptico (324). Las verdaderas reacciones alérgicas al gluconato de clorhexidina son muy poco frecuentes (80,284). Los brotes ocasionales de infecciones nosocomiales, han sido relacionados con soluciones contaminadas de clorhexidina (325–328). También se ha informado de resistencia a la clorhexidina (329).

### Yodo y yodóforos

El yodo se ha reconocido como un antiséptico eficaz desde la década de 1800. Sin embargo, dado que a menudo causa irritación y decoloración de la piel, en gran medida ha sido sustituido por los yodóforos como el ingrediente activo en antisépticos.

Las moléculas de yodo penetran rápidamente en la pared celular de los microorganismos e inactivan las células formando complejos con aminoácidos y ácidos grasos insaturados, provocando una alteración en la síntesis proteica y una alteración en las membranas celulares (330). Los yodóforos se componen de yodo elemental, yodo o triyoduro, y un portador polimérico (agente complejante) de alto peso molecular. La cantidad de yodo molecular presente (también llamado yodo “libre”), determina el nivel de actividad antimicrobiana de los yodóforos. El yodo “disponible” se refiere a la cantidad total de yodo que se puede valorar como tiosulfato de sodio (331). El 10% de las formulaciones de povidona yodada típicas contienen el 1% de yodo disponible y producen concentraciones de yodo libre de 1 ppm (331). La combinación de yodo con varios polímeros aumenta la solubilidad del yodo, promueve la liberación sostenida del yodo y reduce la irritación de la piel. Los polímeros más comunes incorporados en yodóforos son el polivinilpirrolidona (povidona o PVP) y detergentes no iónicos etoxilados (poloxámeros) (330,331). La actividad antimicrobiana de los yodóforos también puede verse afectada por el pH, la temperatura, el tiempo de exposición, la concentración de yodo total disponible y la cantidad y tipo de compuestos orgánicos e inorgánicos presentes (por ejemplo, alcoholes y detergentes) (37).

El yodo y los yodóforos tienen actividad bactericida contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y algunas bacterias formadoras de esporas (*Clostridium*, *Bacillus* spp.) y son activos contra micobacterias, virus y hongos (13,330,332–335). Sin embargo, en las concentraciones usadas en antisépticos, los yodóforos por lo general no son esporicidas (1). Los estudios *in vivo* han demostrado que los yodóforos reducen el número de microorganismos viables que pueden ser recuperados de las manos del personal sanitario (264,298,301,304,336). La povidona yodada al 5-10% ha sido clasificada provisionalmente

por la MPF de la FDA como un agente activo seguro y eficaz (Categoría I) para su uso como lavado antiséptico y el lavado de manos del personal sanitario (196). El grado en el que los yodóforos mantienen una actividad antimicrobiana persistente una vez que la piel ha sido lavada, es una cuestión de cierta controversia. En un estudio realizado por Paulson et al. (323), se observó una actividad persistente durante seis horas, pero varios otros estudios han demostrado una actividad persistente durante 30-60 minutos tras el lavado de manos con un yodóforo (144,268,337). Sin embargo, en estudios en los que se obtuvieron recuentos bacterianos de sujetos tras realizar el lavado y llevando guantes durante 1-4 horas, los yodóforos demostraron una actividad poco persistente (1,255,338-344). La actividad antimicrobiana *in vivo* de los yodóforos se reduce significativamente en presencia de sustancias orgánicas, tales como la sangre o el esputo (13).

La mayoría de las preparaciones de yodóforos utilizadas para la higiene de manos contienen 7,5-10% de povidona yodada. Las formulaciones con concentraciones más bajas, también tienen una buena actividad antimicrobiana porque la dilución tiende a aumentar las concentraciones de yodo libre (345). Sin embargo, como la cantidad de yodo libre aumenta, el grado de irritación de la piel también puede aumentar (345). Los yodóforos causan menos irritación de la piel y reacciones alérgicas que el yodo, pero producen una dermatitis de contacto más irritante que otros antisépticos de uso común para la higiene de manos (72). En ocasiones, los antisépticos yodóforos se han contaminado con bacilos Gram-negativos, como resultado de deficientes procesos de fabricación, que han causado brotes o pseudo-brotes de infección (331,346). Un brote de pseudobacteremia por *P. cepacia* que implicó a 52 pacientes en cuatro hospitales de Nueva York durante seis meses, se atribuyó a la contaminación de una solución de povidona yodada al 10%, usada como una solución antiséptica y desinfectante (346).

### **Cloroxilenol**

Cloroxilenol, también conocido como para-cloro-meta-xilenol (PCMX), es un compuesto fenólico sustituto de los halógenos, que se ha utilizado ampliamente como conservante en cosméticos y otros productos, y como un agente activo de jabones antimicrobianos. Fue desarrollado en Europa a finales de 1920, y se emplea en los EE.UU., desde la década de los 1950 (347).

La actividad antimicrobiana del cloroxilenol es, aparentemente, atribuible a la inactivación de las enzimas bacterianas y a la alteración de las paredes celulares (1). Tiene una buena actividad *in vitro* contra los organismos Gram-positivos y una actividad razonable frente a bacterias Gram-negativas, micobacterias y algunos virus (1,12,347). El

cloroxilenol es menos activo contra *P. aeruginosa*, pero la adición de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) aumenta su actividad contra *Pseudomonas* spp. y otros patógenos (37).

Son relativamente pocos los artículos publicados en los últimos 25 años, relativos a la eficacia de los preparados que contienen cloroxilenol usados por personal sanitario, y los resultados de los estudios en ocasiones han sido contradictorios. Por ejemplo, en experimentos en los que se aplicaron antisépticos para la piel abdominal, Davies et al. encontraron que el cloroxilenol tenía una actividad inmediata y residual más débil que cualquiera de los agentes estudiados (348). Sin embargo, cuando se realizaron lavados de manos de 30 segundos utilizando cloroxilenol al 0,6%, digluconato de clorhexidina al 2% y triclosán al 0,3%, el efecto inmediato del cloroxilenol fue similar al de otros agentes. Cuando se usa 18 veces/día, durante cinco días, el cloroxilenol presentaba menos actividad acumulativa de lo que lo hizo el gluconato de clorhexidina (349). Cuando se utilizó cloroxilenol para un lavado quirúrgico, Soulsby et al. (350) documentaron que el cloroxilenol al 3% tenía una actividad inmediata y residual comparable al gluconato de clorhexidina al 4%, mientras que otros dos estudios encontraron que la actividad inmediata y residual del cloroxilenol era inferior tanto al gluconato de clorhexidina como a la povidona yodada (323,351). La disparidad entre los estudios publicados puede ser por las diferentes concentraciones de cloroxilenol empleadas en las preparaciones evaluadas, así como a otros aspectos de las formulaciones ensayadas, incluyendo la presencia o ausencia de EDTA (12,347). Larson concluyó que el cloroxilenol no es activo tan rápidamente como el gluconato de clorhexidina o los yodóforos, y que su actividad residual es menos pronunciada que la observada con el gluconato de clorhexidina (12,347). En 1994, la MPF de la FDA clasificó provisionalmente al cloroxilenol como un agente activo en la Categoría IIISE (datos insuficientes para clasificar como seguro y efectivo) (196). La evaluación adicional de este agente por la FDA está en curso (37).

La actividad antimicrobiana del cloroxilenol se ve mínimamente afectada por la presencia de materia orgánica, pero es neutralizado por agentes surfactantes no iónicos. El cloroxilenol se absorbe por la piel (12,347), generalmente es bien tolerado y las reacciones alérgicas son relativamente infrecuentes. El cloroxilenol está disponible en concentraciones que van del 0,3% al 3,75%. Se ha documentado la contaminación por uso de una preparación que contenía cloroxilenol (352).

## Triclosán

El triclosán (nombre químico 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter) es una sustancia no iónica e incolora, que fue desarrollada en la década de 1960. Se ha incorporado en jabones para uso del personal sanitario y uso público, y en una variedad de otros productos de consumo. Las concentraciones, desde 0,2% al 2%, tienen una actividad antimicrobiana. El triclosán entra en las células bacterianas, afectando a la membrana citoplasmática y a la síntesis de ARN, ácidos grasos y proteínas (353). Estudios recientes sugieren que la actividad antibacteriana de este agente es atribuible, en gran parte, a la unión al sitio activo enoil-acil, de la proteína reductasa transportadora (354,355).

El triclosán tiene un rango bastante amplio de actividad antimicrobiana, pero tiende a ser bacteriostático (1). El intervalo de la CMI oscila de 0,1 a 10 mg/ml, mientras que las concentraciones mínimas bactericidas oscilan entre 25-500 g/ml. La actividad del triclosán contra organismos Gram-positivos (incluyendo MRSA) es mayor que contra bacilos Gram-negativos, especialmente contra la *P. aeruginosa* (1,353). El agente posee una actividad razonable contra micobacterias y *Candida* spp., pero tiene poca actividad contra hongos filamentosos. El triclosán (0,1%) reduce los recuentos bacterianos en las manos 2,8 log<sub>10</sub>, tras un lavado higiénico de manos de 1 minuto (1). En varios estudios, las reducciones logarítmicas alcanzadas han sido menores que con la clorhexidina, yodóforos o productos a base de alcohol (1,144,214,349,356). En 1994, la MPF de la FDA clasificó provisionalmente al triclosán hasta el 1% como agente activo en la Categoría IIISE (datos insuficientes para clasificar como seguro y eficaz para su uso como lavado de manos antiséptico) (196). La evaluación adicional de este agente por la FDA está en curso (37). Como le ocurre a la clorhexidina, el triclosán tiene una actividad persistente sobre la piel. Su actividad en productos para el cuidado de las manos se ve afectada por el pH, la presencia de agentes tensoactivos o humectantes, y la naturaleza iónica de la formulación en particular (1,353). La actividad del triclosán no se ve afectada sustancialmente por la materia orgánica, pero puede ser inhibida por el secuestro del agente en estructuras micelas formadas por los tensoactivos presentes en algunas formulaciones (37). La mayoría de las formulaciones que contienen menos del 2% de triclosán son bien toleradas y rara vez causan reacciones alérgicas. Algunos informes sugieren que suministrar al personal sanitario preparaciones que contengan triclosán para la antisepsia de manos ha dado lugar a una disminución de infecciones causadas por MRSA (181,182). La falta de actividad potente del triclosán contra bacilos Gram-negativos se ha traducido en informes ocasionales de triclosán contaminado (357).

## Justificación, objetivos e hipótesis

A pesar de la gran variedad de productos y agentes antisépticos, no existe ninguno que sea ideal para todas las situaciones, sin olvidar que uno de los grandes factores, además de la eficacia de cada producto, es la aceptabilidad que los profesionales le den para su uso repetido (358) y la gran variedad de prácticas comúnmente empleadas en la higiene de manos (359,360).

Como se ha comentado anteriormente, en la actualidad son pocos los artículos que demuestren la eficacia de los preparados que contienen cloroxilenol o paraclorometaxilenol (PCMX) (37), no habiendo sido capaces de encontrar estudios que demuestren la eficacia del PCMX 3% frente a otros antisépticos con un uso más extendido y admitido en la práctica clínica, como es el propanol o el digluconato de clorhexidina al 4%, por lo que nuestra hipótesis es que el lavado de manos quirúrgico con PCMX tiene la misma eficacia bactericida que el propanol-1 al 60% y que el digluconato de clorhexidina al 4%.

El objetivo general del presente estudio es determinar si el antiséptico PCMX 3% tiene la misma eficacia bactericida que los antisépticos propanol-1 al 60% y que el digluconato de clorhexidina al 4%, tras la antisepsia de manos.

Los objetivos específicos planteados son:

- Determinar el efecto inmediato del paraclorometaxilenol 3% y el digluconato de clorhexidina 4%.
- Determinar el efecto a las tres horas del paraclorometaxilenol 3% y el digluconato de clorhexidina 4%, habiendo empleado guantes de látex estériles sin polvo.
- Determinar qué antiséptico tiene una mayor eficacia bactericida, comparándolo con el propanol-1 60%.

## MATERIAL Y MÉTODOS

---



Este estudio experimental, de muestreo no probabilístico en fase IV, involucró a 20 voluntarios adultos sanos a los que se les instruyó en el lavado de manos. Los participantes fueron 6 hombres y 14 mujeres, con una edad media de  $24,83 \pm 5,25$  (rango, 24 - 40 años).

Se empleó un diseño cuasi-experimental o de intervención no aleatorizada, con una evaluación pre-intervención y post-intervención en cuadrado latino.

La aprobación para el estudio, como ensayo clínico no aleatorizado, se obtuvo del Comité de Ética para la Investigación Clínica del Hospital Universitario San Carlos, de Madrid, con nº 14/186-TFM (Anexo I), así como por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos de Norteamérica, a través de Clinicaltrials, con número de identificación NCT02500758. Los participantes se reclutaron de manera voluntaria, siguiendo los Principios Éticos de la Declaración de Helsinki, y previo al inicio del estudio se les informó y se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes, donde quedan reflejadas las características de la investigación, así como las muestras que se les tomarían. Así mismo, fueron informados de la posibilidad de abandonar el estudio en cualquier momento, y del anonimato y confidencialidad de sus datos (Anexo II).

Los criterios de inclusión fueron personas mayores de 18 años de edad, sin patologías sistémicas y cuyas manos tengan la piel sana y las uñas de los dedos de las manos cortas. Los voluntarios fueron instruidos para que, una semana antes de comenzar el estudio, no utilizaran ninguna sustancia que tuviera acción antibacteriana.

Los criterios de exclusión incluyeron historia de eczemas, psoriasis, alergias a cualquiera de los ingredientes de las soluciones o contraindicación para su uso, dermatitis atópica o cualquier otra alteración de la piel de las manos que no garantice su continuidad, el uso reciente (menor a una semana) de tratamiento antibiótico o terapia antimicrobiana activa, así como la imposibilidad cognitiva y/o motora para poder seguir las instrucciones del lavado de manos.

Los muestreos para el análisis microbiológico se tomaron siguiendo la norma UNE-EN 12791, así como mediante hisopo estéril con medio amies agar (Copan® Diagnostics Inc. Corona, California) del segundo pliegue interdigital y lecho ungueal de primera falange. A efectos de este estudio, se asumió que el uso de hisopos de algodón en la toma de muestras de la piel para el cultivo de bacterias era válido, dado que los hisopos de algodón han sido empleados para el muestreo de la piel en estudios similares reportados en la literatura (361–364). La carga bacteriana se expresó como número de Unidades Formadoras de Colonias (CFUs).

Se consideran variables independientes, las soluciones antisépticas empleadas para la desinfección de manos. El antiséptico estándar fue la solución de propanol-1 al 60% (concentración en volumen), como recoge la norma UNE-EN 12791 (205) y los antisépticos a ensayo fueron el digluconato de clorhexidina al 4%, 20 ml/cepillo (Dispomedic® Scrub C, C.V. Medica, Sarrià de Noya, Tarragona, España) y el paraclorometaxilenol (PCMX) al 3%, 20 ml/cepillo, Aloe Vera y emolientes (Dispomedic® Aloe PCMX, C.V. Medica, Sarrià de Noya, Tarragona, España). La variable dependiente de estudio es la carga bacteriana inmediatamente después de realizar el lavado quirúrgico de manos, la carga bacteriana a las 3 horas de llevar colocados los guantes quirúrgicos de látex estériles sin polvo (Guante Peha-Taft Classic®, Bastos Medical, S.L., Barcelona, España), así como la diferencia de carga bacteriana antes, inmediatamente después de realizar dicho lavado de manos y a las 3 horas, habiendo empleado guantes quirúrgicos, todo ellos expresado en el logaritmo decimal ( $\log_{10}$ ) de Unidades Formadoras de Colonias (CFU).

## **Procedimiento de preparación de la piel, lavado quirúrgico y toma de muestras.**

Se evaluaron tres soluciones antisépticas. A los participantes no se les dio ninguna instrucción especial para el lavado o ducha, manteniendo su rutina de higiene personal, así mismo, desconocían qué antiséptico iban a emplear el día del estudio. Un solo investigador observó y siguió el tiempo y procedimiento de lavado de manos con cada preparación.

Todos los participantes fueron instruidos en la técnica para el lavado de manos quirúrgico descrito por la OMS (359) y por la norma UNE-EN 12791 (205), empleando un jabón de manos no antimicrobiano una semana antes del estudio.

### **Lavado de manos preparatorio.**

Se realizó un lavado de manos preparatorio siguiendo la norma UNE-EN 12791 (205), utilizando un jabón blando diluido con una concentración de 200g/1000g, realizado en el servicio de Farmacia Comunitaria, con la composición que se detalla en la tabla 1, y esterilizado en autoclave. Las manos se prepararon lavándolas sin utilización de ningún cepillo, durante un minuto, con 10 mililitros de jabón blando. Después de enjuagarlas con agua corriente del grifo, se secaron completamente con toallas de papel (205).

**Tabla 1.**

Composición jabón blando diluido (concentración 200g/1000g) empleado en el lavado preoperatorio, según la Norma UNE-EN 12791

Aceite de linaza	50 partes <sup>1)</sup>
Hidróxido de potasio	9,5 partes
Etanol 96% (concentración en volumen)	7 partes
Agua destilada	Según se precise
<sup>1)</sup> En peso	

### Obtención de muestras pre-antisepsia.

Inmediatamente después de que se hayan secado las manos, se procede a la obtención de muestras.

#### Mediante hisopos estériles.

Un segundo investigador empleó hisopos estériles de algodón para obtener dos muestras para el cultivo aeróbico, de manera idéntica, en dos puntos diferentes durante el proceso. Una muestra se obtuvo del lecho ungueal de la falange distal del 1º dedo y el otro se obtuvo del espacio interdigital entre el 2º y 3º dedo. Las superficies, de entre 0,75 y 1 cm<sup>2</sup>, se frotaron con los hisopos de algodón durante 10 segundos, tanto en el lecho ungueal como en el segundo espacio interdigital, respectivamente.

Las variables obtenidas se denominarán “*Valor inicial derecha pliegue*” para la muestra obtenida del segundo pliegue interdigital de la mano derecha, “*Valor inicial derecha uña*”, para la muestra obtenida del lecho ungueal de la falange distal del 1º dedo de la mano derecha, “*Valor inicial izquierda pliegue*” para la muestra obtenida del segundo pliegue interdigital de la mano izquierda y “*Valor inicial uña izquierda*” para la muestra obtenida del lecho ungueal del 1º dedo de la mano izquierda.

#### Mediante metodología de norma UNE-EN 12791.

De acuerdo a dicha norma, la obtención de muestras se realizará frotando los extremos de los dedos, incluyendo el pulgar, de ambas manos, durante un minuto sobre la base de una placa Petri, que contiene 10 mililitros de TSB sin neutralizador, para evaluar la liberación de bacterias de la piel antes del tratamiento de manos. Se empleará una placa Petri diferente para cada mano (205).

Las variables obtenidas se denominarán “*Valor tras lavado con jabón neutro derecha*” para la mano derecha y “*Valor tras lavado con jabón neutro izquierda*” para la mano izquierda.

Inmediatamente después de haber tomado las muestras para determinar los valores tras lavado con jabón neutro, los extremos de los dedos se frotan entre sí hasta que estén secos. A continuación, se efectúa el procedimiento de antisepsia de referencia, o de los objeto de ensayo, siguiendo las directrices de la OMS (359) en cuanto a la técnica de lavado y siguiendo la norma UNE-EN 12791, en la que el tiempo de aplicación máxima no deberá superar los cinco minutos para ambas manos (205).

#### **Procedimiento para la antisepsia quirúrgica de manos con el producto de referencia.**

Siguiendo la norma UNE-EN 12791 (205), se vertieron 3 mililitros de propanol-1 al 60% en la concavidad formada entre las manos y se frotaron vigorosamente hasta las muñecas de acuerdo con el procedimiento normalizado de frotado de las manos descrito en el anexo III, para asegurar la total cobertura de las manos. Esto consiste en frotar las manos cinco veces en ambos sentidos de cada movimiento descrito a continuación; palma contra palma, palma de la mano derecha sobre el dorso de la mano izquierda y palma de la mano izquierda sobre el dorso de la mano derecha, palma contra palma de los dedos entrelazados, dorso de los dedos contra la palma opuesta con los dedos trabados, frotamiento por rotación de los dedos de la mano izquierda cerrados alrededor del pulgar derecho y de los dedos de la mano derecha cerrados alrededor del pulgar izquierdo, frotamiento por rotación de los dedos unidos por sus yemas de la mano derecha contra la palma izquierda y de los dedos unidos por sus yema de la mano izquierda contra la palma derecha. Cuando casi se hayan secado las manos, se aplicaron alícuotas adicionales de 3 mililitros de propanol-1 conforme se fueron evaporando.

Se fueron aplicando alícuotas de alcohol para mantener las manos húmedas durante 3 minutos, el tiempo de aplicación total del producto de referencia.

#### **Procedimiento para la antisepsia quirúrgica de manos con los productos objeto de ensayo.**

De acuerdo a la norma UNE-EN 12791, ambas manos se lavaron, utilizando un cepillo de lavado quirúrgico estéril desechable de polietileno, con cerdas flexibles por un lado pegado a una esponja de espuma de poliuretano jabonosa en el otro. El lado de las cerdas se utilizó para cepillar las manos al completo, incluyendo todas las uñas, palma y dorso de la mano, y espacios interdigitales, y el lado de la espuma se empleó para frotar entre los dedos.

Durante dos minutos y medio se frotó cada lado de cada dedo, entre los dedos y dorso y palma de las manos, después se procedió a lavar los antebrazos manteniendo, en todo momento, la mano más alta que el brazo, empleando un minuto para lavar cada lado del antebrazo, desde la muñeca hasta el codo (359).

Ambas manos se enjuagan con agua corriente haciéndolas pasar a través del agua en una sola dirección (desde la yema de los dedos hacia el codo) y se secan, incluyendo uñas y pliegues interdigitales, con una toalla estéril de un solo uso (DIRRA, Vidiana, Italia).

En ambas ocasiones, el lavado de manos se realizó siguiendo la misma técnica descrita.

#### **Obtención de muestras post-antisepsia.**

Después del tratamiento y secado, se procedió a valorar la carga bacteriana de la mano derecha.

##### ***Mediante hisopos estériles.***

Se utilizaron los mismos procedimientos de muestreo para valorar la carga bacteriana, descritos anteriormente.

Obteniendo las variables *“Valor tras antisepsia derecha pliegue”*, para la muestra obtenida del segundo pliegue interdigital de la mano derecha y *“Valor tras antisepsia derecha uña”* para la muestra obtenida del lecho ungueal de la primera falange de la mano derecha.

##### ***Mediante metodología de la norma UNE-EN 12791.***

Se utilizaron los mismos procedimientos de muestreo para valorar la carga bacteriana, descritos anteriormente.

Conforme dicha norma, se obtiene la muestra de la mano derecha, denominándose a esta variable *“Valor tras antisepsia derecha”*.

Tras obtener las muestras post-antisepsia, la mano derecha se secó utilizando una toalla estéril y ambas manos se protegieron de cualquier contaminación llevando puesto guantes estériles durante 3 horas, en las cuales se realizaron prácticas de sutura quirúrgica en modelo animal.

#### **Obtención de muestras a las 3 horas tras antisepsia.**

Transcurridas 3 horas, se retiraron los guantes quirúrgicos y se procedió a valorar la carga bacteriana en la mano izquierda.

##### ***Mediante hisopos estériles.***

Se emplearon los mismos procedimientos de muestreo descritos anteriormente, obteniendo las variables *“Valor tras antisepsia izquierda pliegue”* para la muestra obtenida del segundo pliegue interdigital de la mano izquierda y *“Valor tras antisepsia izquierda uña”* para la muestra obtenida del lecho ungueal del primer dedo de la mano izquierda.

***Mediante metodología de la norma UNE-EN 12791.***

Se emplearon los mismos procedimientos de muestreo descritos anteriormente, obteniendo la variable “*Valor a las 3 horas izquierda*”.

Se cuantificó el factor de reducción (FR) inmediato restando el valor de la carga bacteriana inicial obtenida en la mano derecha tras el lavado simple de manos con la solución jabonosa blanda, con el valor de la carga bacteriana obtenida en la misma mano tras realizar la antisepsia quirúrgica, siendo formulado con las siguientes variables:

FR inmediato:  $\log. \text{Valor inicial derecha} - \log. \text{Valor tras antisepsia derecha}$

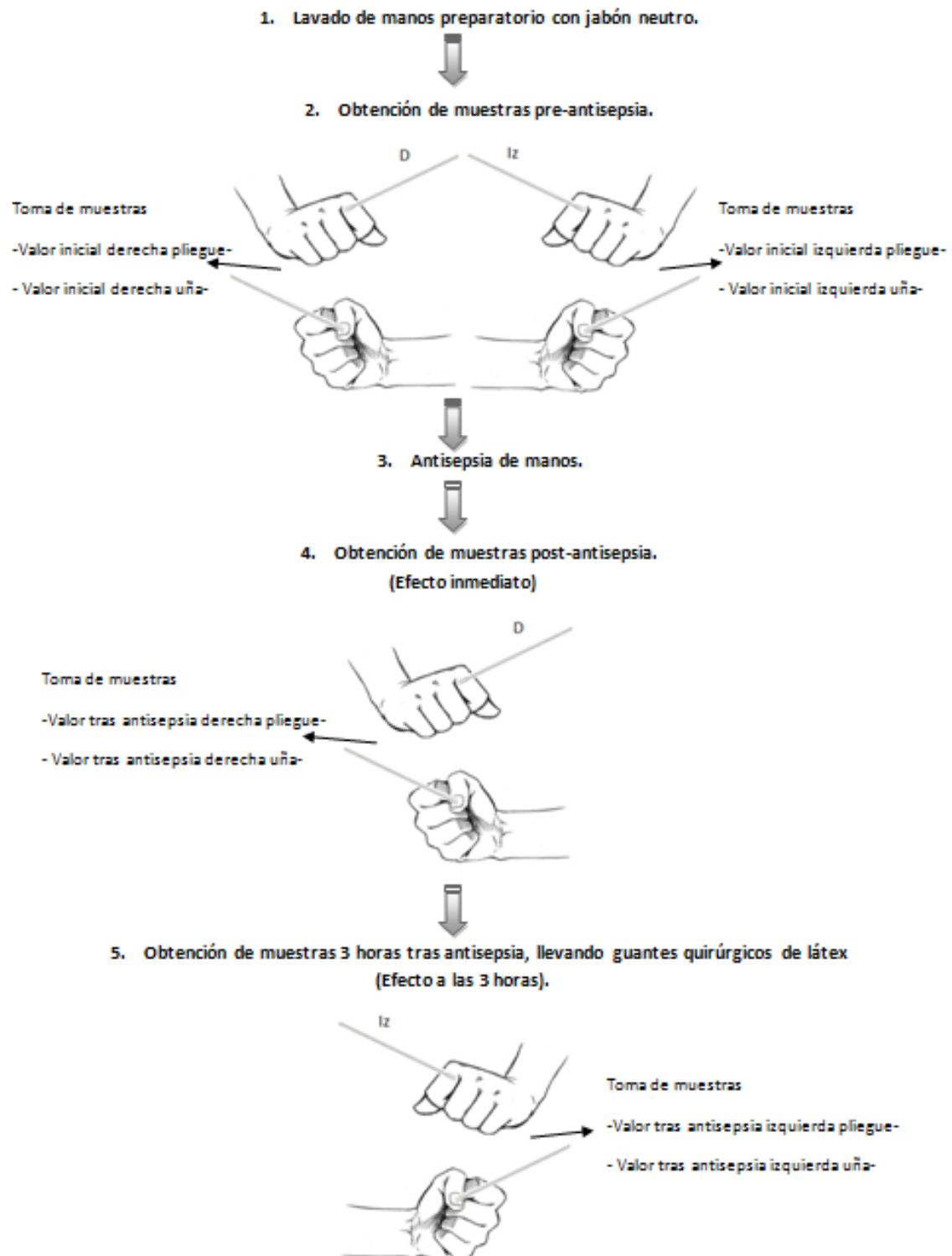
Igualmente, se valoró el factor de reducción a las 3 horas, mediante la resta de la variable “Valor inicial izquierda” de la variable “*Valor a las 3 horas izquierda*”, resultando la fórmula con las siguientes variables:

FR 3 horas:  $\log. \text{Valor inicial izquierda} - \log. \text{Valor a las 3 horas izquierda}$

Ambos factores de reducción se expresaron mediante su logaritmo decimal ( $\log_{10}$ ).

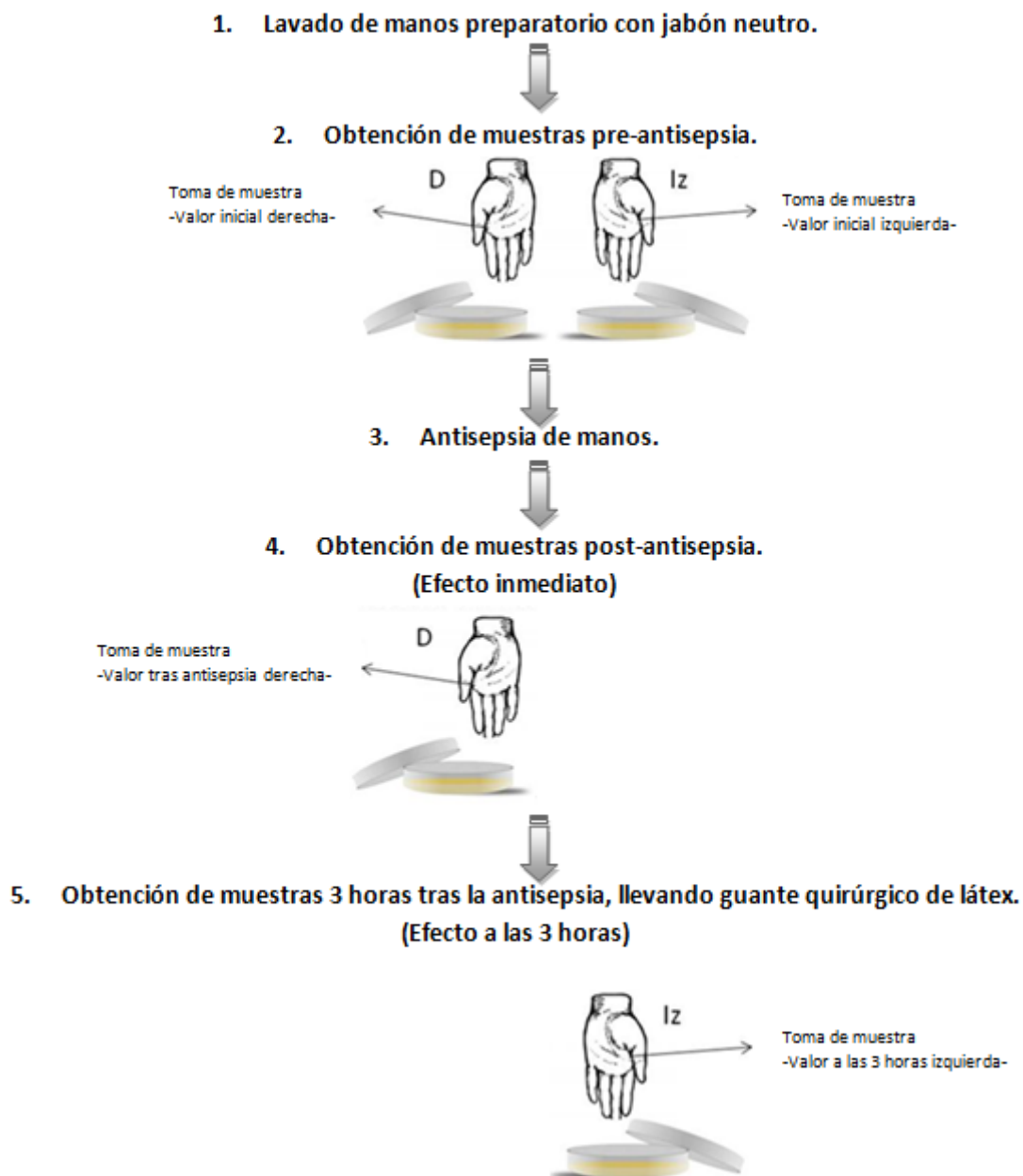
**Imagen 1.**

Obtención de muestras, según técnica de hisopado.



**Imagen 2.**

Obtención de muestras, según técnica descrita en Norma UNE-EN 12791.





## Cultivo de muestras

En el laboratorio, un tercer investigador desconocía las soluciones antisépticas empleadas en el lavado de manos y uñas para cada muestra.

### Cultivo de muestras obtenidas por técnica de hisopado.

Los hisopos se resuspendieron en 2 mililitros de cloruro de sodio al 0,9% y se diluyeron 10 veces. Al menos 3 diluciones de cada muestra se extendieron sobre medio de cultivo agar MacConkey y Sabouraud dextrosa con 5% de sangre de oveja (20µl en cada placa).

Las placas se incubaron a 35°C, contando las colonias a las 24 y a las 48 horas. La presencia de una unidad formadora de colonias (CFU) fue considerada para poder indicar un cultivo como positivo. La carga bacteriana se expresó como valor logarítmico del número de bacterias por centímetro cuadrado de la piel.

La reducción de la inoculación inicial se calculó restando los recuentos logarítmicos de colonias en la fase post-antisepsia de los de la fase pre-antisepsia.

Las bacterias fueron identificadas por los métodos estándar de identificación de laboratorio.

Los límites de detección en el lecho ungueal y pruebas cutáneas fueron  $1,33 \times 10^2$  y  $1 \times 10^2$  CFU/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

### Cultivo de muestras obtenidas según la norma UNE-EN 12791.

Para las muestras obtenidas tras el lavado simple de manos con solución jabonosa blanda, según la norma UNE-EN 12791, se prepararon diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$  de los fluidos de muestreo en TSB (caldo de soja triptona). Para cada dilución, se sembraron 0,1 mililitros sobre la superficie de una placa con TSA (agar de soja triptona), utilizando espátulas de vidrio. El intervalo de tiempo entre la preparación de la muestra y la siembra de la placa no fue superior a 30 minutos.

Tanto para las muestras obtenidas tras la realización de la antisepsia quirúrgica de la mano derecha, como para la obtención de las muestras obtenidas tras llevar los guantes quirúrgicos estériles durante 3 horas en la mano izquierda, se emplearon volúmenes de 1,0 mililitros y 0,1 mililitros de fluido de muestreo sin diluir y 0,1 mililitros de la dilución  $10^{-1}$  para la siembra sobre la placa de los cultivos cuantitativos.

Todas las placas se incubaron aeróbicamente a  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , durante 18 a 24 horas. A continuación se efectuó el recuento de las unidades formadoras de colonias (CFU) y se

continuó la incubación durante otras 24 horas para detectar cualquier colonia de crecimiento lento.

Se registró el número de unidades formadoras de colonias (CFU) por placa, para cada etapa de dilución. Se calculó el factor de dilución, multiplicando la dilución de la muestra por el volumen de la muestra (en mililitros). Se calculó el número de CFU por mililitro de fluido de muestro, multiplicando el recuento de CFU por placa por el factor de dilución.

Las bacterias fueron identificadas por los métodos estándar de identificación de laboratorio.

Los límites de detección fueron  $1,33 \times 10^2$  y  $1 \times 10^2$  CFU/ml.

## **Análisis estadístico**

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para tamaños muestrales menores de 30, con el objetivo de determinar si las variables cuantitativas del estudio provenían de una distribución normal (365).

Se empleó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras relacionadas, para comparar los resultados obtenidos en las variables cuantitativas entre dos grupos al inicio y tras la antisepsia quirúrgica, usando un mismo producto antiséptico (365).

Se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para la comparación de la medida de las variables cuantitativas entre los tres grupos independientes, para comparar la eficacia dependiendo del tipo de solución antiséptica empleada (365).

Los datos se analizaron con el software estadístico IBM SPSS Statistics, versión 19 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

El nivel estadísticamente significativo se fijó en una  $p < 0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.

## RESULTADOS

---

En la tabla 1 se muestran las características sociodemográficas de los participantes en el estudio.

**Tabla 3.**  
Características sociodemográficas de la población.

N = 20	Media $\pm$ DS	Rango (Min-Max)	IC 95%
<b>Edad (años)</b>	24,83 $\pm$ 5,25	24-40	22,53-27,13
<b>Peso (kg)</b>	66,84 $\pm$ 7,64	54-78	63,49-70,19
<b>Altura (cm)</b>	166,48 $\pm$ 4,26	155-176	164,61-168,35

Abreviaturas: DS, Desviación estándar; kg, Kilogramo; cm, centímetros; Min, Mínimo; Max, Máximo

Al valorar los resultados obtenidos tras lavado con jabón neutro, en los diferentes grupos que emplearían los tres antisépticos a estudio: propanol-1 al 60%, digluconato de clorhexidina (CHG) 4% y paraclorometaxilenol (PCMX) 3%, tanto empleando la norma UNE-EN 12791 como el hisopado de lecho ungueal y pliegue interdital, se evidenció había variables que no presentaban una distribución normal.

Cuando el muestreo se realizó empleando la norma UNE-EN 12791, las variables relativas al propanol-1 60% no tienen una distribución normal, mientras que el sí lo presentaban el restado de variables, según puede verse reflejado en la tabla 4.

**Tabla 4.**  
Pruebas de normalidad utilizando propanol-1 60%, digluconato de clorhexidina al 4% y paraclorometaxilenol al 3% en la antisepsia prequirúrgica de manos, realizando la toma de muestras, según norma UNE-EN 12791.

		Shapiro-Wilk (n<30) <sup>a</sup> Valor P
Logaritmo valor inicial tras lavado con jabón neutro en mano derecha	Propanol-1 60%	0,0151
	CHG 4%	0,0898
	PCMX 3%	0,9116
Logaritmo valor inicial tras lavado con jabón neutro en mano izquierda	Propanol-1 60%	0,0148
	CHG 4%	0,2397
	PCMX 3%	0,9371

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.  
<sup>a</sup> Significación estadística para un valor  $p < 0,05$ , con un intervalo de confianza del 95%.

Cuando el muestreo se realizó empleando el hisopado en lecho ungueal, las variables relativas al CHG 4% y propanol-1 60%, no presentaban una distribución normal. Cuando el hisopado se realizó en el pliegue interdital, las variables relativas al PCMX 3% en ambas manos, propanol-1 60% en mano derecha y CHG 4% en mano izquierda, no presentaban una distribución normal, conforme se pone de manifiesto en la tabla 5.

**Tabla 5.**

Pruebas de normalidad utilizando propanol-1 60%, digluconato de clorhexidina al 4% y paraclorometaxilenol al 3% en la antisepsia prequirúrgica de manos, empleando hisopos como técnica de muestreo.

			Shapiro-Wilk (n<30) <sup>a</sup> Valor P*
Logaritmo valor inicial tras lavado con jabón neutro en mano derecha	Lecho ungueal	Propanol-1 60%	0,4725
		CHG 4%	0,0463
		PCMX 3%	0,5549
	Pliegue Interdigital	Propanol-1 60%	0,0424
		CHG 4%	0,0585
		PCMX 3%	0,0019
Logaritmo valor inicial tras lavado con jabón neutro en mano izquierda	Lecho ungueal	Propanol-1 60%	0,0008
		CHG 4%	0,7899
		PCMX 3%	0,6363
	Pliegue Interdigital	Propanol-1 60%	0,0504
		CHG 4%	0,0044
		PCMX 3%	0,0279
Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.			
<sup>a</sup> Significación estadística para un valor p<0.05, con un intervalo de confianza del 95%.			

Al ser distribuciones no normales, se optó por emplear el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas, para comparar la medida de la variable cuantitativa entre dos grupos (pre-antisepsia y post-antisepsia) y el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para comparar muestras independientes, es decir, los tres antisépticos empleados (propanol-1 60%, digluconato de clorhexidina 4% y paraclorometaxilenol 3%).

### **Análisis de resultados habiendo realizado la toma de muestras según la norma UNE-EN 12791.**

Con respecto a la eficacia de los antisépticos empleados, conforme la norma UNE-EN 12791, en la tabla 6 se muestran los valores logarítmicos de la carga bacteriana inicial en la mano derecha y en la mano izquierda, así como los valores logarítmicos del efecto inmediato tras la antisepsia quirúrgica de la mano derecha, mostrando la reducción obtenida. Igualmente, se muestran los resultados logarítmicos obtenidos tras realizar la antisepsia quirúrgica y llevar puestos 3 horas los guantes quirúrgicos, valorado en la mano izquierda, así como la reducción o incremento logarítmico de la carga bacteriana.

**Tabla 6.**

**Eficacia de los antisépticos, conforme norma UNE-EN 12791.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/ml) y logaritmo del factor de reducción, utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%.

EFECTO INMEDIATO (CFU/ml en mano derecha)					EFECTO A LAS 3 HORAS (CFU/ml en mano izquierda)			
	Logaritmo valor tras lavado jabón neutro	Logaritmo valor tras antiseptia	Valor p*	Logaritmo factor de reducción mano derecha	Logaritmo valor tras lavado jabón neutro	Logaritmo valor tras antiseptia	Valor p*	Logaritmo factor de reducción mano izquierda
<b>CHG 4%</b>	3,71±0,58	3,87±0,58	0,0762	-0,16 ±0,62	3,9 ±0,48	4,65±0,8	0,0010	-0,75±-0,32
<b>PCMX 3%</b>	4,07±0,63	3,96±0,39	0,2549	0,11±0,6	3,89±0,75	4,54±0,62	0,0018	-0,65±0,67
<b>Propanol-1 60%</b>	3,47±1,13	2,08±1	0,0003	1,38±1,2	3,68±1,2	2,37±1	0,0002	1,32±0,84

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.  
 \*Valor P, según test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas.  
 Significación estadística para un valor p>0,01, con un intervalo de confianza del 99%.

Si analizamos los resultados obtenidos por cada antiséptico, podemos objetivar que, al utilizar como antiséptico el CHG 4%, la carga bacteriana tras el lavado de la mano derecha con jabón neutro es de 3,71±0,58 CFU/ml, y el resultado de la carga bacteriana tras realizar la antiseptia de la mano derecha es de 3,87±0,58 CFU/ml, produciéndose un aumento en la carga bacteriana de las manos tras el lavado quirúrgico de -0,16±0,62 CFU/ml, aunque no existen diferencias estadísticamente significativas (p= 0,0762). Sin embargo, siguiendo con el CHG 4%, tras 3 horas empleando guante quirúrgico, se sigue produciendo un aumento de la carga bacteriana con un valor de 4,65±0,8 CFU/ml, en comparación con los valores tras realizar el lavado con jabón neutro, con un valor de 3,9±0,48 CFU/ml, resultando un incremento de la carga bacteriana de -0,75±-0,32 CFU/ml, siendo este incremento estadísticamente significativo (p= 0,0010).

Analizando los resultados obtenidos por el PCMX 3%, se observa que la carga bacteriana tras el lavado de manos con jabón neutro es de 4,07±0,63 CFU/ml, y la carga bacteriana tras realizar la antiseptia de manos es de 3,96±0,39 CFU/ml, produciéndose una disminución de la misma de 0,11±0,6 CFU/ml, aunque dicha reducción tampoco es estadísticamente significativa (p=0,2549). No obstante, si valoramos los resultados tras 3 horas, habiendo tenido enguantadas las manos de manera estéril, podemos observar que se produce un incremento de la carga bacteriana de las manos (4,54±0,62 CFU/ml), en comparación con los valores tras realizar el lavado de manos con jabón neutro (3,86±0,75 CFU/ml), resultando en un incremento de la carga bacteriana de -0,65±0,67 CFU/ml, siendo este incremento estadísticamente significativo (p=0,0018).

En relación a los resultados obtenidos tras realizar la antisepsia con propanol-1 60%, se pone de manifiesto que entre los valores obtenidos tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $3,47 \pm 1,13$  CFU/ml) y los valores tras realizar la antisepsia de manos ( $2,08 \pm 1$  CFU/ml), se produce una disminución en la carga bacteriana de  $1,38 \pm 1,2$  CFU/ml, siendo esta disminución estadísticamente significativa ( $p=0,0002$ ). Lo que también ocurre si analizamos los resultados obtenidos tras 3 horas habiendo empleado guante quirúrgico, con una carga bacteriana tras realizar el lavado de manos con jabón neutro de  $3,68 \pm 1,2$  CFU/ml, y una carga bacteriana de  $2,37 \pm 1$  CFU/ml a las 3 horas tras emplear guante estéril, produciéndose una disminución en el recuento de las unidades formadoras de colonias de  $1,32 \pm 0,84$  CFU/ml, siendo esta disminución estadísticamente significativa ( $p=0,0002$ ).

En la tabla 7 se muestran los valores obtenidos en el efecto inmediato para cada uno de los antisépticos empleados, así como su comparación por parejas.

**Tabla 7.**

**Eficacia en el efecto inmediato, según tipo de antiséptico utilizado, conforme norma UNE-EN 12791.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/ml), utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%, y comparación de su efecto inmediato.

	EFECTO INMEDIATO (CFU/ml en mano derecha)			Valor P*		
	CHG 4%	PCMX 3%	PROPANOL-1 60%	CHG 4% vs PCMX 3%	CHG 4% vs PROPANOL-1 60%	PCMX 3% vs PROPANOL-1 60%
<b>Logaritmo valor tras lavado con jabón neutro</b>	$3,71 \pm 0,58$	$4,07 \pm 0,63$	$3,47 \pm 1,13$	0,1623	0,1623	0,1623
<b>Logaritmo valor tras antisepsia</b>	$3,87 \pm 0,58$	$3,96 \pm 0,39$	$2,08 \pm 1$	0,0531	0,0001	0,0001
<b>Logaritmo factor reducción mano derecha</b>	$-0,16 \pm 0,62$	$0,11 \pm 0,6$	$1,38 \pm 1,2$	0,1730	0,0002	0,0016

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.

\*Valor P, según test no paramétrico de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Significación estadística para un valor  $p < 0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.

Antes de analizar la eficacia de cada antiséptico, es importante señalar que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,1623$ ) de carga bacteriana tras realizar el lavado de manos con jabón neutro, es decir, los tres grupos partían de la misma carga bacteriana, por lo que la muestra es homogénea.

Analizando las comparaciones realizadas por parejas, podemos observar que entre el CHG 4% y el PCMX 3%, no existen diferencias estadísticamente significativas ni tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,1623$ ) ni tras realizar la antisepsia de manos

( $p=0,0531$ ), por lo que su logaritmo del factor de reducción tampoco es estadísticamente significativo ( $p=0,1730$ ).

Entre el CHG 4% y el propanol-1 al 60%, no existen diferencias estadísticamente significativas tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,1623$ ), pero sí existen diferencias significativas tras realizar la antisepsia ( $p=0,0001$ ), siendo el factor de reducción entre ambos estadísticamente significativa ( $p=0,0002$ ).

Analizando el efecto inmediato entre el PCMX 3% y el propanol-1 al 60%, podemos observar que no existen diferencias estadísticamente significativas tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,1623$ ), pero tras realizar la antisepsia de manos se pone de manifiesto que existen diferencias significativas ( $p=0,0001$ ), siendo su factor de reducción también estadísticamente significativo ( $p=0,0016$ ).

En la tabla 8 se detallan los resultados que cada antiséptico ha tenido en su efecto a las 3 horas, así como su comparación por parejas.

**Tabla 8.**

**Eficacia en el efecto a las 3 horas, según tipo de antiséptico utilizado, conforme norma UNE-EN 12791.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/ml), utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%, y comparación de su efecto a las 3 horas.

	EFECTO A LAS 3 HORAS (CFU/ml en mano izquierda)			Valor P*		
	CHG 4%	PCMX 3%	PROPANOL-1 60%	CHG 4% vs PCMX 3%	CHG 4% vs PROPANOL-1 60%	PCMX 3% vs PROPANOL-1 60%
<b>Logaritmo valor tras lavado con jabón neutro</b>	3,9±0,48	3,89±0,75	3,68±1,2	0,9453	0,9453	0,9453
<b>Logaritmo valor tras antisepsia</b>	4,65±0,8	4,54±0,62	2,37±1	0,0531	0,0001	0,0001
<b>Logaritmo factor reducción mano izquierda</b>	-0,75±-0,32	-0,65±0,67	1,32±0,84	0,6143	0,0002	0,0001

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.

\*Valor P, según test no paramétrico de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Significación estadística para un valor  $p<0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.

Antes de analizar la eficacia de cada antiséptico, como ocurría en el efecto inmediato, es importante destacar que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,9453$ ) de carga bacteriana tras realizar el lavado de manos con jabón neutro, es decir, los tres grupos partían de la misma carga bacteriana, por lo que la muestra es homogénea.

Si realizamos un análisis de las comparaciones realizadas por parejas, podemos observar que entre el CHG 4% y el PCMX 3% no existen diferencias estadísticamente significativas ni tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,9453$ ), ni tras realizar la antisepsia



de manos ( $p=0,0531$ ), por lo que su factor de reducción tampoco es estadísticamente significativo ( $p=0,6143$ ).

Entre el CHG 4% y el propanol-1 60%, no se observan diferencias estadísticamente significativas tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,9453$ ), sin embargo, sí existen diferencias estadísticamente significativas tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,0001$ ), siendo el factor de reducción estadísticamente significativo ( $p=0,0002$ ).

Si la comparación del efecto a las tres horas la realizamos entre el PCMX 3% y el propanol-1 60%, se evidencia que no existen diferencias estadísticamente significativas tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,9453$ ), pero tras realizar la antisepsia de manos se observa que sí existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,0001$ ), siendo el factor de reducción entre ambos estadísticamente significativo ( $p=0,0001$ ).

#### **Análisis de resultados habiendo realizado la toma de muestras según técnica de hisopado.**

Dentro de la técnica de hisopado, se recogieron muestras de dos puntos de la mano: el lecho ungueal de la primera falange y el segundo espacio interdigital.

Primero se presentarán los resultados obtenidos del lecho ungueal para finalizar con los resultados obtenidos del espacio interdigital.

Los valores obtenidos por los antisépticos empleados, habiendo realizado el muestreo según técnica de hisopado en lecho ungueal quedan reflejados en la tabla 9, en la que se muestran los valores logarítmicos de la carga bacteriana inicial del lecho ungueal de la primera falange de la mano derecha y de la mano izquierda, así como los valores logarítmicos del efecto inmediato tras la antisepsia de la mano derecha, mostrando la reducción obtenida. Así mismo, se muestran los resultados obtenidos en el lecho ungueal de la primera falange de la mano izquierda tras realizar la antisepsia y llevar puestos 3 horas los guantes de látex estériles, junto con la reducción logarítmica de la carga bacteriana obtenida.

**Tabla 9.**

**Eficacia de los antisépticos, conforme técnica de hisopo ungueal.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/cm<sup>2</sup>) y logaritmo del factor de reducción, utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%.

EFECTO INMEDIATO (CFU/cm <sup>2</sup> en mano derecha)					EFECTO A LAS 3 HORAS (CFU/cm <sup>2</sup> en mano izquierda)			
	Logaritmo valor tras lavado jabón neutro	Logaritmo valor tras antisepsia	Valor p*	Logaritmo factor de reducción mano derecha	Logaritmo valor tras lavado jabón neutro	Logaritmo valor tras antisepsia	Valor p*	Logaritmo factor de reducción mano izquierda
<b>CHG 4%</b>	4,78±0,88	4,60±0,79	0,1730	0,18±0,71	4,55 ±1,04	3,99±1,20	0,0349	0,56±1,03
<b>PCMX 3%</b>	4,95±0,92	4,82±0,75	0,6143	0,12±0,77	4,45±1,28	4,15±1,24	0,2197	0,30±1,20
<b>Propanol-1 60%</b>	4,96±0,84	2,28±0,64	0,0001	2,68±1,03	4,98±1,29	2,34±0,83	0,0001	2,64±1,34

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.  
 Valor P, según test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas.  
 Significación estadística para un valor p<0,01, con un intervalo de confianza del 99%.

Analizando los resultados obtenidos por cada antiséptico, se puede objetivar que, al utilizar el CHG 4%, la carga bacteriana en el lecho ungueal de la primera falange de la mano derecha tras el lavado con jabón neutro es de 4,78±0,88 CFU/cm<sup>2</sup>, y el resultado de la carga bacteriana en dicho lecho ungueal tras realizar la antisepsia de la mano derecha es de 4,60±0,79 CFU/cm<sup>2</sup>, produciéndose una reducción en la carga bacteriana de 0,18±0,71 CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha reducción no es estadísticamente significativa (p=0,1730). Si valoramos su efecto a las 3 horas habiendo empleado guante quirúrgico, se sigue produciendo una disminución de la carga bacteriana con un valor de 3,99±1,20 CFU/cm<sup>2</sup>, en comparación con los valores tras realizar el lavado de manos con jabón neutro, con un valor de 4,55±1,04 CFU/cm<sup>2</sup>, resultando una disminución de 0,56±1,03 CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha disminución en la carga bacteriana no es estadísticamente significativa (p=0,0349).

En relación a los resultados obtenidos por el PCMX 3%, observamos que la carga bacteriana en el lecho ungueal de la primera falange de la mano derecha tras el lavado de manos con jabón neutro es de 4,95±0,92 CFU/cm<sup>2</sup> y la carga bacteriana tras realizar la antisepsia de la mano derecha es de 4,82±0,75 CFU/cm<sup>2</sup>, produciéndose una disminución de la carga bacteriana en dicho lecho ungueal de 0,12±0,77 CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha disminución no es estadísticamente significativa (p=0,6143). Mantiene un comportamiento similar en el efecto a las 3 horas empleando guante estéril, donde la carga bacteriana en el lecho ungueal de la mano izquierda tras realizar el lavado de manos con jabón neutro es de 4,45±1,28 CFU/cm<sup>2</sup> y a las 3 horas habiendo empleado guante estéril es de 4,15±1,24 CFU/cm<sup>2</sup>, resultando una disminución en el recuento de las unidades formadoras de

colonias de  $0,30 \pm 1,20$  CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha reducción no es estadísticamente significativa ( $p=0,2197$ ).

Si examinamos los resultados obtenidos tras realizar la antisepsia con propanol-1 60%, se puede objetivar que entre los valores obtenidos en el lecho ungueal de la primera falange de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $4,96 \pm 0,884$  CFU/cm<sup>2</sup>) y los valores en dicho lecho ungueal tras realizar la antisepsia de manos ( $2,28 \pm 0,64$  CFU/cm<sup>2</sup>), se produce una disminución de la carga bacteriana de  $2,68 \pm 1,03$  CFU/cm<sup>2</sup>, siendo dicha reducción estadísticamente significativa ( $p=0,0001$ ). Su comportamiento se mantiene si analizamos los resultados obtenidos a las 3 horas, empleado guante quirúrgico, con una carga bacteriana en el lecho ungueal de la primera falange tras realizar el lavado de manos con jabón neutro de  $4,98 \pm 1,29$  CFU/cm<sup>2</sup>, y una carga bacteriana en dicho lecho ungueal de  $2,34 \pm 0,83$  CFU/cm<sup>2</sup> a las 3 horas tras emplear guante estéril, produciéndose una disminución en el recuento de la carga bacteriana de  $2,64 \pm 1,34$  CFU/cm<sup>2</sup>, siendo esta disminución estadísticamente significativa ( $p=0,0001$ ).

En la tabla 10 se muestran los valores obtenidos en el efecto inmediato en el lecho ungueal para cada uno de los antisépticos empleados, así como su comparación por parejas.

**Tabla 10.**

**Eficacia en el efecto inmediato, según tipo de antiséptico utilizado, por la técnica de hisopo ungueal.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/cm<sup>2</sup>), utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%, y comparación de su efecto inmediato.

	EFECTO INMEDIATO (CFU/cm <sup>2</sup> en mano derecha)			Valor P*		
	CHG 4%	PCMX 3%	PROPANOL-1 60%	CHG 4% vs PCMX 3%	CHG 4% vs PROPANOL-1 60%	PCMX 3% vs PROPANOL-1 60%
<b>Logaritmo valor tras lavado con jabón neutro</b>	4,78±0,88	4,95±0,92	4,96±0,84	0,8428	0,8428	0,8428
<b>Logaritmo valor tras antisepsia</b>	4,60±0,79	4,82±0,75	2,28±0,64	0,0541	0,0001	0,0001
<b>Logaritmo factor reducción mano derecha</b>	0,18 ±0,71	0,12±0,77	2,68±1,03	0,5628	0,0001	0,0001

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.

\*Valor P, según test no paramétrico de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Significación estadística para un valor  $p < 0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.

Previo a realizar el análisis de la eficacia del efecto inmediato de cada antiséptico, es interesante mencionar que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,8428$ ) de carga bacteriana tras realizar el lavado de manos con jabón neutro, por lo que la muestra es homogénea, dado que los tres grupos de ensayo partían de la misma carga bacteriana.

Si examinamos las comparaciones realizadas por parejas, observamos que entre el CHG 4% y el PCMX 3%, no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del lecho ungueal de la mano derecha ni tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,8428$ ), ni tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,0541$ ), por lo que su factor de reducción tampoco es estadísticamente significativo ( $p=0,5628$ ).

Entre el CHG 4% y el propanol-1 60% no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,8428$ ), pero sí existen diferencias estadísticamente significativas tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,0001$ ), siendo el factor de reducción entre ambos, estadísticamente significativo ( $p=0,0001$ ).

Si la comparación del efecto inmediato la realizamos entre el PCMX 3% y el propanol-1 60%, podemos observar que no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del lecho ungueal tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,8428$ ), pero tras realizar la antisepsia se pone de manifiesto que existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,0001$ ), siendo su factor de reducción también estadísticamente significativo ( $p=0,0001$ ).

En la tabla 11 se detallan los resultados que cada antiséptico ha tenido en su efecto a las 3 horas en el lecho ungueal, así como su comparación por parejas.

**Tabla 11.**

**Eficacia en el efecto a las 3 horas, según tipo de antiséptico utilizado, conforme técnica de hisopo ungueal.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/cm<sup>2</sup>), utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%, y comparación de su efecto a las 3 horas.

	EFECTO A LAS 3 HORAS (CFU/cm <sup>2</sup> en mano izquierda)			Valor P*		
	CHG 4%	PCMX 3%	PROPANOL-1 60%	CHG 4% vs PCMX 3%	CHG 4% vs PROPANOL-1 60%	PCMX 3% vs PROPANOL-1 60%
<b>Logaritmo valor tras lavado con jabón neutro</b>	4,55±1,04	4,45±1,28	4,98±1,29	0,1777	0,1777	0,1777
<b>Logaritmo valor tras antisepsia</b>	3,99±1,20	4,15±1,24	2,34±0,83	0,057	0,0001	0,0001
<b>Logaritmo factor reducción mano izquierda</b>	0,56±1,03	0,30±1,20	2,64±1,34	0,6951	0,0004	0,0003

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.

\*Valor P, según test no paramétrico de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Significación estadística para un valor  $p<0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.

Previo al análisis de la eficacia de cada antiséptico, al igual que el efecto inmediato, cabe destacar que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,1777$ ) de carga

bacteriana en el lecho ungueal tras realizar el lavado de manos con jabón neutro a las 3 horas habiendo teniendo enguantada la mano con guante estéril, partiendo los tres grupos de la misma carga bacteriana y siendo homogénea la muestra.

Realizando un análisis de las comparaciones realizadas por parejas, podemos observar que entre el CHG 4% y el PCMX 3% no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del lecho ungueal a las 3 horas empleando guante quirúrgico ni tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,1777$ ), ni tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,057$ ), por lo que su factor de reducción tampoco es estadísticamente significativo ( $p=0,6951$ ).

Si la comparación de la eficacia se realiza entre la CHG 4% y el propanol-1 60%, no se observan diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del lecho ungueal a las 3 horas llevando guante estéril tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,1777$ ), pero sí tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,0001$ ), siendo su factor de reducción también estadísticamente significativo ( $p=0,0004$ ).

Entre el PCMX 3% y el propanol-1 60%, se evidencia que no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del lecho ungueal a las 3 horas habiendo empleado guante quirúrgico tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,1777$ ), pero tras realizar la antisepsia de manos se observa que sí existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del lecho ungueal ( $p=0,0001$ ), siendo su factor de reducción también estadísticamente significativo ( $p=0,0003$ ).

En la tabla a continuación (tabla 12) se muestran los valores obtenidos por los antisépticos a estudio, habiendo realizado el muestreo según la técnica de hisopado en el segundo pliegue interdigital, mostrándose los valores logarítmicos de la carga bacteriana inicial en el segundo pliegue interdigital de la mano derecha y de la mano izquierda, así como los valores logarítmicos del efecto inmediato tras la antisepsia en el segundo pliegue interdigital de la mano derecha, mostrando la reducción o incremento obtenido. Igualmente, se muestran los resultados obtenidos en el segundo pliegue interdigital de la mano izquierda tras realizar la antisepsia habiendo empleado guantes de látex estériles durante 3 horas, junto con la reducción o incremento logarítmico de la carga bacteriana obtenida.

**Tabla 12.**

**Eficacia de los antisépticos, conforme técnica de hisopo en pliegue interdigital.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/cm<sup>2</sup>) y logaritmo del factor de reducción, utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%.

EFECTO INMEDIATO (CFU/cm <sup>2</sup> en mano derecha)					EFECTO A LAS 3 HORAS (CFU/cm <sup>2</sup> en mano izquierda)			
	Logaritmo valor tras lavado jabón neutro	Logaritmo valor tras antisepsia	Valor p*	Logaritmo factor de reducción mano derecha	Logaritmo valor tras lavado jabón neutro	Logaritmo valor tras antisepsia	Valor p*	Logaritmo factor de reducción mano izquierda
<b>CHG 4%</b>	2,55±0,85	2,29±0,72	0,2762	0,26±0,81	2,33 ±0,81	2,23±0,76	0,5995	0,11±0,05
<b>PCMX 3%</b>	2,77±1,21	2,78±1,11	0,6008	0,00±0,79	2,53±0,82	2,41±0,73	0,2397	0,12±0,72
<b>Propanol-1 60%</b>	2,35±0,69	1,71±0,24	0,0007	0,64±0,71	2,28±0,64	1,65±0,15	0,0011	0,63±0,64

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.  
 Valor P, según test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas.  
 Significación estadística para un valor p<0,01, con un intervalo de confianza del 99%.

Si analizamos los resultados obtenidos con cada antiséptico, se puede observar que, al emplear CHG 4%, los valores obtenidos en el segundo pliegue interdigital de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro fueron de 2,55±0,85 CFU/cm<sup>2</sup> y tras realizar la antisepsia los valores obtenidos fueron de 2,29±0,72 CFU/cm<sup>2</sup>, obteniéndose una reducción de 0,26±0,81 CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha disminución en los valores de la carga bacteriana en su efecto inmediato no son estadísticamente significativos (p=0,2762). Si valoramos su efecto a las 3 horas habiendo empleado guantes estériles de látex, observamos que la carga bacteriana en el segundo pliegue interdigital de la mano izquierda tras realizar el lavado con jabón neutro es de 2,33±0,81 CFU/cm<sup>2</sup> y tras 3 horas de haber realizado la antisepsia y empleando guantes quirúrgicos los valores fueron de 2,23±0,76 CFU/cm<sup>2</sup>, produciéndose una reducción de 0,11±0,05 CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha diferencia no es estadísticamente significativa (p=0,5995).

Examinando los resultados obtenido por el PCMX 3%, observamos que la carga bacteriana en el segundo pliegue interdigital de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro es de 2,77±1,21 CFU/cm<sup>2</sup> y tras realizar la antisepsia de manos, los valores obtenidos en dicho pliegue interdigital son de 2,78±1,11 CFU/cm<sup>2</sup>, produciéndose una casi nula reducción de las unidades formadoras de colonias 0,00±0,79 CFU/cm<sup>2</sup>, no siendo estadísticamente significativa (p=0,6008). Si analizamos su efecto a las 3 horas llevando guantes quirúrgicos, se objetiva que la carga bacteriana en el segundo pliegue interdigital de la mano izquierda tras realizar el lavado de manos con jabón neutro es de 2,53±0,82 CFU/cm<sup>2</sup>, y tras realizar la antisepsia de manos y habiendo empleado guantes de látex estériles, la carga bacteriana en dicho pliegue era de 2,41±0,73 CFU/cm<sup>2</sup>,

produciéndose una reducción de  $0,12 \pm 0,72$  CFU/cm<sup>2</sup>, aunque dicha reducción no es estadísticamente significativa ( $p = 0,2397$ ).

En relación a los resultados obtenidos con el propanol-1 60%, en su efecto inmediato, observamos que los valores de la carga bacteriana en el segundo pliegue interdigital de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro eran de  $2,35 \pm 0,69$  CFU/cm<sup>2</sup>, y tras realizar la antisepsia de manos, los valores fueron de  $1,71 \pm 0,24$  CFU/cm<sup>2</sup> produciéndose una diferencia de  $0,64 \pm 0,71$  CFU/cm<sup>2</sup>, siendo dicha reducción estadísticamente significativa ( $p = 0,0007$ ). Valorando los valores obtenidos en su efecto a las 3 horas habiendo empleado guantes estériles, vemos que los valores en el segundo pliegue interdigital de la mano izquierda tras realizar el lavado de manos con jabón neutro fueron de  $2,28 \pm 0,64$  CFU/cm<sup>2</sup> y 3 horas después de realizar la antisepsia de manos y emplear guantes quirúrgicos, los valores fueron de  $1,65 \pm 0,15$  CFU/cm<sup>2</sup>, habiendo una diferencia de  $0,63 \pm 0,64$  CFU/cm<sup>2</sup>, siendo dicha reducción estadísticamente significativa ( $p = 0,0011$ ).

En la tabla 13 quedan reflejados los valores obtenidos en el efecto inmediato en el segundo pliegue interdigital, para cada uno de los antisépticos empleados, así como su comparación por parejas.

**Tabla 13.**

**Eficacia en el efecto inmediato, según tipo de antiséptico utilizado, conforme técnica de hisopo en pliegue interdigital.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/cm<sup>2</sup>), utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%, y comparación de su efecto inmediato.

	EFECTO INMEDIATO (CFU/cm <sup>2</sup> en mano derecha)			Valor P*		
	CHG 4%	PCMX 3%	PROPANOL-1 60%	CHG 4% vs PCMX 3%	CHG 4% vs PROPANOL-1 60%	PCMX 3% vs PROPANOL-1 60%
<b>Logaritmo valor tras lavado con jabón neutro</b>	2,55±0,85	2,77±1,21	2,35±0,69	0,5422	0,5422	0,5422
<b>Logaritmo valor tras antisepsia</b>	2,29±0,72	2,78±1,11	1,71±0,24	0,054	0,048	0,0001
<b>Logaritmo factor reducción mano derecha</b>	0,26 ±0,81	0,00±0,79	0,64±0,71	0,2707	0,1776	0,0105

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.

\*Valor P, según test no paramétrico de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Significación estadística para un valor  $p < 0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.

Antes de analizar la eficacia del efecto inmediato de cada antiséptico, es importante señalar que las tres muestras son homogéneas, dado que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,5422$ ) en la carga bacteriana en el segundo pliegue interdigital de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro.

Comparando los resultados obtenidos por el CHG 4% y el PCMX 3%, en su efecto inmediato, observamos que no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del segundo pliegue interdigital de la mano derecha ni tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,5422$ ), ni tras la antisepsia de manos ( $p=0,054$ ), tampoco siendo estadísticamente significativo su factor de reducción ( $p=0,2707$ ).

Si la comparación la realizamos entre los resultados obtenidos por el CHG 4% y el propanol-1 60%, podemos contemplar que no existen diferencias estadísticamente significativas en el número de unidades formadoras de colonias del segundo pliegue interdigital de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,5422$ ), ni tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,048$ ), por lo que su logaritmo de factor de reducción tampoco es estadísticamente significativo ( $p=0,1776$ ).

Entre el PCMX 3% y el propanol-1 60%, observamos que no existen diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana del segundo pliegue interdigital de la mano derecha tras realizar el lavado de manos con jabón neutro ( $p=0,5422$ ), pero sí analizamos los valores obtenidos tras realizar la comparación de las unidades formadoras de colonias tras realizar la antisepsia de manos por ambos antisépticos, observamos que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos ( $p<0,0001$ ), aunque su factor de reducción no es estadísticamente significativas ( $p=0,0105$ ).

En la tabla a continuación (tabla 14) se muestran los resultados de las comparaciones realizadas entre los tres antisépticos empleados en su efecto a las 3 horas, empleando guantes de látex estériles.

**Tabla 14.**

**Eficacia en el efecto a las 3 horas, según tipo de antiséptico utilizado, conforme técnica de hisopo en pliegue interdigital.**

Valores logarítmicos de los recuentos totales de Unidades Formadas de Colonias (CFU/cm<sup>2</sup>), utilizando digluconato de clorhexidina 4%, paraclorometaxilenol 3% y propanol-1 60%, y comparación de su efecto a las 3 horas.

	EFECTO A LAS 3 HORAS (CFU/cm <sup>2</sup> en mano izquierda)			Valor P*		
	CHG 4%	PCMX 3%	PROPANOL-1 60%	CHG 4% vs PCMX 3%	CHG 4% vs PROPANOL-1 60%	PCMX 3% vs PROPANOL-1 60%
<b>Logaritmo valor tras lavado con jabón neutro</b>	2,33±0,81	2,53±0,82	2,28±0,64	0,5525	0,5525	0,5525
<b>Logaritmo valor tras antisepsia</b>	2,23±0,76	2,41±0,73	1,65±0,15	0,057	0,048	0,0001
<b>Logaritmo factor reducción mano izquierda</b>	0,11±1,053	0,12±0,72	0,63±0,64	0,7938	0,1169	0,025

Abreviaturas: CHG, Digluconato de clorhexidina; PCMX, Paraclorometaxilenol.

\*Valor P, según test no paramétrico de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Significación estadística para un valor  $p<0,01$ , con un intervalo de confianza del 99%.



Al igual que ocurre con el efecto inmediato, en el efecto a las 3 horas, cabe destacar que se partió de muestras homogéneas, dado que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,5525$ ) de carga bacteriana en el segundo pliegue interdigital de la mano izquierda, entre los tres grupos de antisépticos empleados tras realizar el lavado de mano con jabón neutro.

Comparando el efecto a las 3 horas habiendo empleado guante quirúrgico entre el CHG 4% y el PCMX 3%, se objetiva que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,5525$ ) en la carga bacteriana del segundo pliegue interdigital de la mano izquierda entre ambos antisépticos tras realizar el lavado de manos con jabón neutro, al igual que ocurre tras realizar la antisepsia de manos ( $p=0,057$ ), tampoco siendo su factor de reducción estadísticamente significativo ( $p=0,7938$ ).

Si la comparación se realiza entre el CHG 4% y el propanol-1 60%, podemos observar que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,5525$ ) en la carga bacteriana del segundo pliegue interdigital de la mano izquierda tras realizar el lavado con jabón neutro. Si comparamos los resultados obtenidos por ambos antisépticos tras la antisepsia de manos, tampoco existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,048$ ) en el recuento de unidades formadoras de colonias del segundo pliegue interdigital de la mano izquierda, tampoco siendo su factor de reducción estadísticamente significativo ( $p=0,1169$ ).

Entre el PCMX 3% y el propanol-1 60% observamos que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,5525$ ) en la carga bacteriana del segundo pliegue interdigital de la mano izquierda tras realizar el lavado de manos con jabón neutro. Sin embargo, sí existen diferencias significativas entre ambos ( $p=0,0001$ ) tras realizar la antisepsia de manos, aunque su factor de reducción no es estadísticamente significativo ( $p=0,025$ ).

## DISCUSIÓN

---

Los resultados de nuestro estudio concuerdan con estudios previos realizados por Da Cunha et al. (366) y Marena et al. (367), quienes demostraron la dificultad de eliminar la flora de la piel de las manos, siendo los principales agentes identificados el *Staphylococcus* coagulasa negativo, *Corynebacterium* spp., y *Micrococcus* spp., por este orden, que representan la microbiota normal de la piel. Así mismo, y de acuerdo con Kampf (54), la reducción media de la flora residente es menor en comparación con la reducción de la flora transitoria.

Da Cunha et al. (366) realizaron un estudio con el fin de proporcionar las bases para la eficacia de la asepsia preoperatoria sin usar cepillos o esponjas, siendo su objetivo de estudio la evaluación de tres métodos de asepsia preoperatoria utilizando un agente antimicrobiano que contenía gluconato de clorhexidina – CHG 2%; lavado de manos con cepillo (HSB), lavado a mano con esponja (HSS) y fricciones de mano sólo con el agente antiséptico (HRA). Realizaron un estudio cruzado comparativo con 29 profesionales de la salud. La eficacia antimicrobiana se midió utilizando el método de jugo de guante antes y después de cada método probado. Los análisis estadísticos mostraron que no hubo diferencias significativas en cuanto al número de unidades formadoras de colonias al comparar HRA, HSB y las técnicas de HSS ( $p=0,148$ ), lo que teóricamente omite la necesidad de continuar con el uso de cepillos o esponjas para la asepsia de manos.

Se diferencia en que sólo toma muestreo de la mano dominante mediante la técnica de jugo de guante (323,342) que consiste en sumergir la mano dominante de los voluntarios en los guantes quirúrgicos estériles sin polvo de talco y deliberadamente grandes, que contenían 150 ml. de fluido de cultivo de caldo de soja triptosa con adición de 0,5% de tween 80 o polisorbato 80 que es un tensioactivo no iónico hidrófilo comúnmente usado como ingrediente en los vehículos de dosificación para los estudios preclínicos *in vivo* (368), no estando esa técnica recogida en ninguna norma internacional.

En el presente estudio se han muestreado ambas manos, mediante hisopos, siendo esta técnica usada por otros autores (361–364,369) y en placa Petri siguiendo la norma UNE-EN 12791, reconocida internacionalmente.

Da Cunha et al. (366), realizan la antisepsia de manos siguiendo una guía oficial brasileña (60,370) que se fundamenta en ir contando los movimientos realizados durante el lavado de manos y no el tiempo empleado en la antisepsia. En nuestro estudio se ha realizado el lavado de manos siguiendo la norma de lavado de manos por tiempo y técnica homogénea de lavado de manos de la OMS (359) y el recuento de colonias se ha realizado siguiendo la norma UNE-EN, basándonos en tiempo (205). Da Cunha et al. (366) compara los resultados

de un único antiséptico empleando diferentes métodos de asepsia siendo mediante fricción, con cepillo y con esponja, y en nuestro estudio se han comparado tres antisépticos siguiendo el método de cepillado, pero sorprendentemente, los resultados obtenidos son muy similares, pues tanto Da Cunha et al. (366) como nosotros, hemos obtenido una carga bacteriana similar o incluso mayor a la del después de lavado con jabón neutro, por lo que el cepillado parece ser un factor influyente en el aumento de la carga bacteriana durante la antisepsia quirúrgica de las manos.

En un estudio de Barbadoro et al. (371) compararon la eficacia *in vivo* de un antiséptico de manos a base de alcohol (alcohol isopropílico al 40%, alcohol N-propil 25%, glicerina 1,74%, sal de trietanolamina de carbómero <1%), frente a otros productos empleados en la antisepsia quirúrgica de manos a base de clorhexidina 4% y povidona yodada 7,5%. Dicha eficacia bactericida *in vivo* se evaluó en 20 voluntarios sanos de edades comprendidas entre los 27 y los 50 años, quienes tenían la piel libre de cortes o abrasiones, no presentaban trastornos de la piel y las uñas eran cortas y limpias. En los tres experimentos cruzados, cada formulación empleada contenía uno de los tres productos a ensayo, permitiéndose un periodo de una semana entre cada prueba, de modo que al final de los cuatro experimentos, cada voluntario había empleado una vez cada formulación. En dicho estudio realizaron una fase de lavado, empleando un jabón común para eliminar la flora bacteriana transitoria y los agentes extraños de las manos de los voluntarios y tomaron muestras de las falanges distales, no especificando si sólo tomaron muestras de la piel o también de las uñas, de la mano derecha e izquierda en sendas placas de Petri para determinar los pre-valores, conforme la norma europea 12054 (372). Para determinar los valores posteriores al lavado quirúrgico de manos, seleccionaron una mano al azar para obtener el post-valor o valores para el efecto inmediato, mientras que la otra mano se dejó secar y posteriormente se enguantó en guante quirúrgico estéril durante 3 horas para la evaluación del efecto sostenido, obtenido tras la retirada del guante. La toma de muestras se realizó de manera similar a la del efecto inmediato. Tras el análisis de los resultados, observaron que los mejores resultados se obtuvieron con el antiséptico para manos a base de alcohol y que estos fueron sostenidos por un periodo de 3 horas. Resultados que concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio, donde el antiséptico que produjo una mayor reducción en la carga bacteriana de las manos fue el n-propanol 60%.

Sin embargo, según una revisión realizada por Tanner et al. (373) cuando se comparan los resultados obtenidos entre las fricciones con alcohol y los lavados acuosos, los resultados no son homogéneos, por lo que no es posible sacar conclusiones firmes. Dos ensayos analizados encontraron que los lavados alcohólicos que contenían ingredientes

activos adicionales, tales como N-duopropenida (340), y propanol-2 al 45%, propanol-1 al 30% con etilhexadecildimetil de acetato de sulfato de amonio 0,2% (374) eran más efectivos que los lavados acuosos para reducir el número de unidades formadoras de colonias de las manos. Un ensayo realizado por Gupta C., et al. (375) en el se comparaba la eficacia antiséptica de una solución a base de alcohol y una solución acuosa de alcohol para la asepsia de manos por fricción, frente a una solución yodada por cepillado quirúrgico, utilizando los criterios de la FDA-TFM, no encontró diferencias entre el cepillado con povidona yodada y fricciones con alcohol étílico al 61% y 70%. En otro ensayo realizado por Hajipour et al. (376) que comparaban el grado de contaminación de la mano de un cirujano después del uso de gluconato de clorhexidina acuosa o jabonosa como antiséptico realizando un lavado previo de manos durante 5 minutos con clorhexidina para luego lavarse de nuevo las manos durante 3 minutos, con gel de alcohol o clorhexidina, y tomando muestras de las yemas de los dedos de cada mano mediante placa de agar, tras retirar cuidadosamente el guante tras cada intervención quirúrgica, encontraron que los lavados acuosos con clorhexidina con más eficaces que fricciones con clorhexidina alcohólica.

En la actualidad, hay que tener en cuenta que está empezando a existir un creciente interés en el procedimiento de lavado de manos quirúrgico en entornos reales de trabajo (371,377-379), publicándose estudios donde se pone de manifiesto que, para reducir la carga bacteriana de las manos es más efectivo realizar un lavado simple de manos que emplear el cepillado quirúrgico con el mismo antiséptico (366,380,381) y que, transcurridas dos horas de aplicación del antiséptico, la flora bacteriana de la piel se iguala con los valores iniciales, llegando a incrementarse a las tres horas después de la intervención (373,382), por lo que estos resultados concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio en los que, tras realizar la antisepsia de manos empleando la técnica de cepillado quirúrgico con digluconato de clorhexidina al 4%, en su efecto inmediato y en su efecto a las tres horas, tanto con digluconato de clorhexidina al 4% como con paraclorometaxilenol 3%, se aprecia un incremento de las unidades formadoras de colonias en las manos.

Dicho incremento en la carga bacteriana también queda recogido en un estudio de O'Farrell et al. (383) en el que se evaluó la eficacia antimicrobiana de un cepillado de 5 minutos comparado con uno de 10 minutos con gluconato de clorhexidina al 4%, antes de operaciones superiores a 90 minutos, e inferiores a 90 minutos, de artroplastia total de cadera, estando directamente relacionado con el tiempo empleado en el cepillado de manos. En dicho estudio realizaron un lavado de manos quirúrgico, según el método descrito por Ayliffe et al. (257) que consistía en humedecer las manos bajo el grifo, vertiendo 5 ml. de la

preparación en las manos ahuecadas y aplicándola durante 30 segundos por un procedimiento estándar que consistía frotar cinco veces palma con palma, palma derecha sobre dorso izquierdo, palma izquierda sobre dorso derecho, palma contra palma con los dedos entrelazados, dorso de los dedos para oponerse a la palma con dedos entrelazados, roce de rotación del pulgar derecho sobre la palma izquierda y el pulgar izquierdo sobre la palma derecha, rotación de los dedos hacia delante y hacia atrás con los dedos unidos de la mano derecha en la palma de la mano izquierda y de la mano izquierda en la palma de la mano derecha; las manos y las muñecas se frotaron hasta el final del periodo de 30 segundos, luego se enjuagaron bajo el grifo durante 15 segundos y después secaron las manos con una toalla estéril y los dedos de cada mano se frotaron durante 30 segundos sobre una placa de Petri que contenía 10 mililitros de solución neutralizante (10% de caldo de soja triptona, 0,3% de azolectin y 2% de tween 80 o polisorbato). Las manos se secaron de nuevo con una toalla estéril y se enguantaron con doble guante. Al finalizar la operación se muestrearon ambas manos de los voluntarios del mismo modo descrito anteriormente. En dicho estudio observaron que para los procedimientos de artroplastia que duraban menos de 90 minutos, realizados en 35 operaciones, un cepillado de manos de 5 minutos era igual de efectivo que uno de 10 minutos. Sin embargo, en los procedimientos más largos, llevados a cabo en 36 intervenciones quirúrgicas, los recuentos de colonias fueron significativamente mayores en aquellos sujetos que habían cepillado durante 10 minutos que en los que sólo se cepillaron durante 5 minutos. Según O'Farrell et al. (383) esta discrepancia puede explicarse por un mayor desprendimiento de microorganismos que se encuentran en las zonas profundas de la epidermis como son los poros y pliegues cutáneos de la epidermis durante el cepillado de 10 minutos, lo que puede liberar más bacterias que luego pueden multiplicarse rápidamente en un entorno que es cada vez más húmedo y cálido, conforme el tiempo de la intervención aumenta. Dicho efecto también ocurre en nuestro estudio, donde la carga bacteriana aumenta cuando se ha mantenido el guante durante tres horas, al igual que cuando se realizan cirugías de mayor duración.

Según Barbadoro et al. (371) este efecto paradójico de incremento de la carga bacteriana tras realizar la antisepsia de manos podría deberse a la descamación de las células de la piel, encontrando en dicho estudio, que en los participantes que experimentaban el citado fenómeno, el factor de reducción para el efecto a las tres horas de haber realizado el lavado quirúrgico era significativamente inferior al registrado para el efecto inmediato tras haber realizado el lavado quirúrgico.

A la luz de los resultados obtenidos en este estudio, podemos valorar que el paraclorometaxilenol al 3% tiene la misma eficacia bactericida que el digluconato de

clorhexidina al 4%, tanto en su efecto inmediato, como en su efecto sostenido, obteniendo ambos unos valores mayores en el recuento de las unidades formadoras de colonias si los comparamos con el propanol-1 60%, tanto en su efecto inmediato como a las 3 horas de haber realizado el lavado quirúrgico.

#### Limitaciones del estudio:

La falta de homogeneidad en las técnicas y los métodos de cuantificación de la carga bacteriana, no permite realizar comparaciones entre los estudios realizados, dado que no se han encontrado autores que hayan empleado el método validado establecido por la norma UNE-EN 12791.

Así mismo, se debe evitar la gran variedad de prácticas comúnmente empleadas en la higiene de manos dado que con algunas soluciones se emplean las fricciones, mientras que con otras se recomienda el cepillado quirúrgico, (359,360), intentando establecer unas normas estandarizadas para la preparación quirúrgica de manos que permitan que los ensayos *in vivo* sean lo más ajustados posibles a la condiciones prácticas (371).

Cabe destacar que no se han encontrado estudios que valoren la efectividad *in vivo* del paraclorometaxilenol como antiséptico para disminuir la carga bacteriana de las manos, ni estudios que comparen su eficacia con otros antisépticos recomendados para el lavado quirúrgico de manos (37,358), lo cual no nos permite poder establecer comparaciones con otros estudios.

#### Futuras Líneas de Investigación:

Nos planteamos conocer el efecto del paraclorometaxilenol realizando un lavado por fricción y cepillado quirúrgico, así como poder comparar su efecto con la povidona yodada y el triclosan.

## CONCLUSIONES

---



Por los resultados obtenidos en nuestro estudio, podemos establecer las siguientes conclusiones:

1.- El paraclorometaxilenol al 3% tiene la misma eficacia bactericida que el digluconato de clorhexidina al 4%, tras la asepsia de manos, pero menor que el propanol-1 60%.

2.- Analizando su efecto inmediatamente después de realizar la asepsia de manos, el paraclorometaxilenol 3% tiene la misma eficacia bactericida que el digluconato de clorhexidina 4%, no existiendo diferencias significativas en las reducciones de cargas bacterianas cuando comparamos dichos antisépticos.

3.- A las tres horas de haber realizado la asepsia de manos, el antiséptico paraclorometaxilenol 3% tiene la misma eficacia bactericida que el digluconato de clorhexidina 4%, no existiendo diferencias significativas en las reducciones de cargas bacterianas cuando comparamos dichos antisépticos.

4.- Existen diferencias significativas cuando se compara el efecto del paraclorometaxilenol 3% y el digluconato de clorhexidina 4% frente al del propanol-1 60%, teniendo dicho antiséptico una mayor eficacia bactericida, tanto en su efecto inmediato como a las tres horas de haber realizado la asepsia de manos.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Rotter ML. Hand washing and hand disinfection. In: Mayhall CG, editor. Hospital epidemiology and infection control. 2nd ed. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1999.
2. Jumaa P. Hand hygiene: simple and complex. *Int J Infect Dis.* 2005;9:3–14.
3. Aiello A AE, Larson EL. What is the evidence for a causal link between hygiene and infections? *Lancet Infect Dis.* United States; 2002 Feb;2(2):103–10.
4. Luby SP, Agboatwalla M, Painter J, Altaf A, Billhimer WL, Hoekstra RM. Effect of intensive handwashing promotion on childhood diarrhea in high-risk communities in Pakistan: a randomized controlled trial. *JAMA.* United States; 2004 Jun;291(21):2547–54.
5. Luby SP, Agboatwalla M, Feikin DR, Painter J, Billhimer W, Altaf A, et al. Effect of handwashing on child health: a randomised controlled trial. *Lancet.* England; 2005 Jul;366(9481):225–33.
6. Mortimer EAJ, Lipsitz PJ, Wolinsky E, Gonzaga AJ, Rammelkamp CHJ. Transmission of staphylococci between newborns. Importance of the hands to personnel. *Am J Dis Child.* Not Available; 1962 Sep;104:289–95.
7. Boyce JM et al. Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2002;51(RR-16):1–45.
8. Bryan P et al. Guidelines for hospital environmental control. Section 1. Antiseptics, handwashing, and handwashing facilities. In: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), editor. Centers for Disease Control (CDC) Hospital Infections Program (HIP): guidelines for prevention and control of nosocomial infections. Atlanta, Springfield; 1981. p. 6–10.
9. Garner JS et al. CDC guideline for handwashing and hospital environmental control, 1985. *Infect Control.* 1986;7:231–43.
10. Bjerke N. The evolution: Handwashing to hand hygiene guidance. *Crit Care Nurs Q.* United States; 2004;27(3):295–307.
11. Coppage C. Handwashing in patient care. United States Public Health Service. Washington, DC; 1961.
12. Larson E. Guideline for use of topical antimicrobial agents. *Am J Infect Control* [Internet]. 1988 Dec [cited 2014 Jun 22];16(6):253–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2849888>
13. Larson E. APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *Am J Infect Control.* 1995;23:215–69.
14. HICPAC. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report. UNITED STATES; 1995 Sep.

15. Garner J. Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1996 Jan;17(1):53–80.
16. Wendt C. Hand hygiene--comparison of international recommendations. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 2001 Aug;48 Suppl A:S23–8.
17. Ayliffe AJ. Recommendations for the control of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). Organization WH, editor. Geneva; 1996.
18. Duce G. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide. Organization WH, editor. Geneva; 2002.
19. WHO/WPRO/SEARO. Practical guidelines for infection control in health care facilities. WHO/WPRO/SEARO, editor. Geneva; 2004.
20. Maki DG. Editorial: Lister revisited: surgical antisepsis and asepsis. *N Engl J Med*. UNITED STATES; 1976 Jun;294(23):1286–7.
21. Mackenzie I. Preoperative skin preparation and surgical outcome. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1988 Apr;11 Suppl B:27–32.
22. Reinicke EA. Bakteriologische Untersuchungen über die Desinfektion der Hände. *Zentralblatt Gynäkologie*. 1894;(47):1189–99.
23. Price PB. The bacteriology of normal skin: a new quantitative test applied to a study of the bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. *J Infect Dis*. 1938;6:301–18.
24. Lam S, Singer C, Tucci V, Morthland VH, Pfaller MA, Isenberg HD. The challenge of vancomycin-resistant enterococci: a clinical and epidemiologic study. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1995 Jun;23(3):170–80.
25. Tucci VJ, Stone AM, Thompson C, Isenberg HD, Wise L. Studies of the surgical scrub. *Surg Gynecol Obstet*. UNITED STATES; 1977 Sep;145(3):415–6.
26. Parienti JJ, Thibon P, Heller R, Le Roux Y, von Theobald P, Bensadoun H, et al. Hand-rubbing with an aqueous alcoholic solution vs traditional surgical hand-scrubbing and 30-day surgical site infection rates: a randomized equivalence study. *JAMA*. United States; 2002 Aug;288(6):722–7.
27. Wendt C. Empfehlungen zur Händehygiene-ein internationaler Vergleich. In: Kampf G, editor. *Hände-Hygiene im Gesundheitswesen*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer- Verlag; 2003. p. 261–75.
28. Thomas M, Hollins M. Epidemic of postoperative wound infection associated with ungloved abdominal palpation. *Lancet*. ENGLAND; 1974 Jun;1(7868):1215–7.
29. Beltrami EM, Williams IT, Shapiro CN, Chamberland ME. Risk and management of blood-borne infections in health care workers. *Clin Microbiol Rev*. UNITED STATES; 2000 Jul;13(3):385–407.

30. Widmer A et al. Alcohol vs. chlorhexidine gluconate for preoperative hand scrub: a randomized cross-over clinical trial. In: American Society for Microbiology, editor. Proceedings of the 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Orlando, Florida; 1994.
31. Kralj N, Beie M, Hofmann F. Surgical gloves--how well do they protect against infections?. *Gesundheitswesen*. GERMANY; 1999;61(8-9):398-403.
32. Thomas S, Agarwal M, Mehta G. Intraoperative glove perforation--single versus double gloving in protection against skin contamination. *Postgrad Med J*. England; 2001 Jul;77(909):458-60.
33. Doebbeling BN, Pfaller MA, Houston AK, Wenzel RP. Removal of nosocomial pathogens from the contaminated glove. Implications for glove reuse and handwashing. *Ann Intern Med*. UNITED STATES; 1988 Sep;109(5):394-8.
34. Lark RL, VanderHyde K, Deeb GM, Dietrich S, Massey JP, Chenoweth C. An outbreak of coagulase-negative staphylococcal surgical-site infections following aortic valve replacement. *Infect Control Hosp Epidemiol*. United States; 2001 Oct;22(10):618-23.
35. Weber S, Herwaldt LA, McNutt L-A, Rhomberg P, Vaudaux P, Pfaller MA, et al. An outbreak of *Staphylococcus aureus* in a pediatric cardiothoracic surgery unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. United States; 2002 Feb;23(2):77-81.
36. Grinbaum RS, de Mendonca JS, Cardo DM. An outbreak of handscrubbing-related surgical site infections in vascular surgical procedures. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1995 Apr;16(4):198-202.
37. World Health Organization. Guidelines on hand hygiene in health care. (Advanced Draft). Geneva; 2006.
38. Tanner J, Parkinson H. Double gloving to reduce surgical cross-infection. *Cochrane database Syst Rev*. England; 2006;(3):CD003087.
39. World Health Organization. Surgical Care at the District Hospital [Internet]. 2003 [cited 2014 Mar 23]. Available from: <http://www.who.int/surgery/publications/en/SCDH.pdf>
40. Kampf G, Goroncy-Bermes P, Fraiese A, Rotter M. Terminology in surgical hand disinfection--a new Tower of Babel in infection control. *J Hosp Infect* [Internet]. 2005 Mar [cited 2014 Mar 23];59(3):269-71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15694992>
41. Widmer AF. Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub? *Clin Infect Dis* [Internet]. 2000 Jul [cited 2014 Mar 23];31(1):136-43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10913411>
42. Trampuz A, Widmer AF. Hand hygiene: a frequently missed lifesaving opportunity during patient care. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2004 Jan [cited 2014 Mar 23];79(1):109-16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14708954>

43. Elek SD, Conen PE. The virulence of *Staphylococcus pyogenes* for man; a study of the problems of wound infection. *Br J Exp Pathol*. Not Available; 1957 Dec;38(6):573–86.
44. Labadie JC, Kampf G, Lejeune B, Exner M, Cotttron O, Girard R, et al. Recommendations for surgical hand disinfection -- requirements, implementation and need for research. A proposal by representatives of the SFHH, DGHM and DGKH for a European discussion. *J Hosp Infect*. England; 2002 Aug;51(4):312–5.
45. McFarland L V, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med*. UNITED STATES; 1989 Jan;320(4):204–10.
46. Samore MH, Venkataraman L, DeGirolami PC, Arbeit RD, Karchmer AW. Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Med*. UNITED STATES; 1996 Jan;100(1):32–40.
47. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Unexplained deaths following knee surgery--Minnesota, 2001. *Morbidity and mortality weekly report*. United States; 2001 Dec.
48. Carlier J-P, K'ouas G, Lozniewski A, Sirveaux F, Cailloux P, Mory F. Osteosynthesis-associated bone infection caused by a nonproteolytic, nontoxigenic *Clostridium botulinum*-like strain. *J Clin Microbiol*. United States; 2004 Jan;42(1):484–6.
49. Montes LF, Wilborn WH. Location of bacterial skin flora. *Br J Dermatol*. ENGLAND; 1969;81:Suppl 1:23+.
50. Rayan GM, Flournoy DJ. Microbiologic flora of human fingernails. *J Hand Surg Am*. UNITED STATES; 1987 Jul;12(4):605–7.
51. Lee YL, Cesario T, Lee R, Nothvogel S, Nassar J, Farsad N, et al. Colonization by *Staphylococcus* species resistant to methicillin or quinolone on hands of medical personnel in a skilled-nursing facility. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1994 Dec;22(6):346–51.
52. Evans CA, Smith WM, Johnston EA, Giblett ER. Bacterial flora of the normal human skin. *J Invest Dermatol*. Not Available; 1950 Oct;15(4):305–24.
53. Hay RJ. Fungi and fungal infection of the skin. In: Noble WC, editor. *The skin microflora and microbial skin disease*. Cambridge: Cambridge University Press; 1993. p. 232–63.
54. Kampf G, Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2004 Oct [cited 2014 Jun 4];17(4):863–93, table of contents. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=523567&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
55. Marples RR, Towers AG. A laboratory model for the investigation of contact transfer of micro-organisms. *J Hyg (Lond)*. ENGLAND; 1979 Apr;82(2):237–48.

56. Patrick DR, Findon G, Miller TE. Residual moisture determines the level of touch-contact-associated bacterial transfer following hand washing. *Epidemiol Infect.* ENGLAND; 1997 Dec;119(3):319–25.
57. Adams B. Hand carriage of aerobic gram-negative rods may not be transient. *J Hyg (Lond).* 1982;89:33–46.
58. Selwyn S. Microbiology and ecology of human skin. *Practitioner.* 2000;224:1059–62.
59. Larson E. Effects of handwashing agent, handwashing frequency, and clinical area on hand flora. *Am J Infect Control.* UNITED STATES; 1984 Apr;12(2):76–82.
60. Larson EL, Hughes CA, Pyrek JD, Sparks SM, Cagatay EU, Bartkus JM. Changes in bacterial flora associated with skin damage on hands of health care personnel. *Am J Infect Control.* UNITED STATES; 1998 Oct;26(5):513–21.
61. Maki DG. Control of colonization and transmission of pathogenic bacteria in the hospital. *Ann Intern Med.* UNITED STATES; 1978 Nov;89(5 Pt 2 Suppl):777–80.
62. Pittet D, Dharan S, Touveneau S, Sauvan V, Perneger T V. Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Arch Intern Med.* UNITED STATES; 1999 Apr;159(8):821–6.
63. Sprunt K, Redman W, Leidy G. Antibacterial effectiveness of routine hand washing. *Pediatrics.* UNITED STATES; 1973 Aug;52(2):264–71.
64. Larson E, Friedman C, Cohran J, Treston-Aurand J, Green S. Prevalence and correlates of skin damage on the hands of nurses. *Heart Lung.* UNITED STATES; 1997;26(5):404–12.
65. Tupker RA. Detergent and cleansers. In: van der Valk PGMM H, editor. *The irritant contact dermatitis syndrome.* New York: CRC Press; 1996. p. 71–6.
66. Graham M, Nixon R, Burrell LJ, Bolger C, Johnson PDR, Grayson ML. Low rates of cutaneous adverse reactions to alcohol-based hand hygiene solution during prolonged use in a large teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* United States; 2005 Oct;49(10):4404–5.
67. Wilhelm K-P. Prevention of surfactant-induced irritant contact dermatitis. In: P E, Lachapelle JM, Wahlberg JE MH, editors. *Prevention of contact dermatitis Current problems in dermatology.* Basel: Karger; 1996. p. 78–85.
68. Kownatzki E. Hand hygiene and skin health. *J Hosp Infect.* England; 2003 Dec;55(4):239–45.
69. Ojajarvi J, Makela P, Rantasalo I. Failure of hand disinfection with frequent hand washing: a need for prolonged field studies. *J Hyg (Lond).* ENGLAND; 1977 Aug;79(1):107–19.

70. Winnefeld M, Richard MA, Drancourt M, Grob JJ. Skin tolerance and effectiveness of two hand decontamination procedures in everyday hospital use. *Br J Dermatol*. ENGLAND; 2000 Sep;143(3):546–50.
71. De Haan P et al. Irritancy of alcohols. In: van der Valk PGM MH, editor. *The irritant contact dermatitis syndrome*. New York: CRC Press; 1996. p. 65–70.
72. Larson E, Leyden JJ, McGinley KJ, Grove GL, Talbot GH. Physiologic and microbiologic changes in skin related to frequent handwashing. *Infect Control*. UNITED STATES; 1986 Feb;7(2):59–63.
73. Lubbe J, Ruffieux C, van Melle G, Perrenoud D. Irritancy of the skin disinfectant n-propanol. *Contact Dermatitis*. Denmark; 2001 Oct;45(4):226–31.
74. Ohlenschlaeger J, Friberg J, Ramsing D, Agner T. Temperature dependency of skin susceptibility to water and detergents. *Acta Derm Venereol*. NORWAY; 1996 Jul;76(4):274–6.
75. Emilson A, Lindberg M, Forslind B. The temperature effect on in vitro penetration of sodium lauryl sulfate and nickel chloride through human skin. *Acta Derm Venereol*. SWEDEN; 1993 Jun;73(3):203–7.
76. De Groot AC. Contact allergy to cosmetics: causative ingredients. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1987 Jul;17(1):26–34.
77. Schnuch A, Uter W, Geier J, Frosch PJ, Rustemeyer T. Contact allergies in healthcare workers. Results from the IVDK. *Acta Derm Venereol*. NORWAY; 1998 Sep;78(5):358–63.
78. Rastogi SC, Heydorn S, Johansen JD, Basketter DA. Fragrance chemicals in domestic and occupational products. *Contact Dermatitis*. Denmark; 2001 Oct;45(4):221–5.
79. Uter W, Schnuch A, Geier J, Pfahlberg A, Gefeller O. Association between occupation and contact allergy to the fragrance mix: a multifactorial analysis of national surveillance data. *Occup Environ Med*. England; 2001 Jun;58(6):392–8.
80. Rosenberg A, Alatary SD, Peterson AF. Safety and efficacy of the antiseptic chlorhexidine gluconate. *Surg Gynecol Obstet*. UNITED STATES; 1976 Nov;143(5):789–92.
81. Ophaswongse S, Maibach HI. Alcohol dermatitis: allergic contact dermatitis and contact urticaria syndrome. A review. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1994 Jan;30(1):1–6.
82. Cimiotti JP, Marmur ES, Nesin M, Hamlin-Cook P, Larson EL. Adverse reactions associated with an alcohol-based hand antiseptic among nurses in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control*. United States; 2003 Feb;31(1):43–8.
83. Denton GW. Chlorhexidine. In: Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4 th. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991. p. 274–89.



84. Perrenoud D, Bircher A, Hunziker T, Suter H, Bruckner-Tuderman L, Stager J, et al. Frequency of sensitization to 13 common preservatives in Switzerland. Swiss Contact Dermatitis Research Group. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1994 May;30(5):276–9.
85. Kiec-Swierczynska M, Krecisz B. Occupational skin diseases among the nurses in the region of Lodz. *Int J Occup Med Environ Health*. POLAND; 2000;13(3):179–84.
86. Garvey LH, Roed-Petersen J, Husum B. Anaphylactic reactions in anaesthetised patients - four cases of chlorhexidine allergy. *Acta Anaesthesiol Scand*. Denmark; 2001 Nov;45(10):1290–4.
87. Pham NH, Weiner JM, Reisner GS, Baldo BA. Anaphylaxis to chlorhexidine. Case report. Implication of immunoglobulin E antibodies and identification of an allergenic determinant. *Clin Exp Allergy*. ENGLAND; 2000 Jul;30(7):1001–7.
88. Nishioka K, Seguchi T, Yasuno H, Yamamoto T, Tominaga K. The results of ingredient patch testing in contact dermatitis elicited by povidone-iodine preparations. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 2000 Feb;42(2):90–4.
89. Wong CS, Beck MH. Allergic contact dermatitis from triclosan in antibacterial handwashes. *Contact Dermatitis*. Denmark; 2001 Nov;45(5):307.
90. Turner P, Saeed B, Kelsey MC. Dermal absorption of isopropyl alcohol from a commercial hand rub: implications for its use in hand decontamination. *J Hosp Infect*. England; 2004 Apr;56(4):287–90.
91. Scott D, Barnes A, Lister M, Arkell P. An evaluation of the user acceptability of chlorhexidine handwash formulations. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1991 Jun;18 Suppl B:51–5.
92. Kanzaki T, Sakakibara N. Occupational allergic contact dermatitis from ethyl-2-bromo-p-methoxyphenylacetate. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1992 Mar;26(3):204–5.
93. Patruno C, Suppa F, Sarracco G, Balato N. Allergic contact dermatitis due to ethyl alcohol. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1994 Aug;31(2):124.
94. Okazawa H, Aihara M, Nagatani T, Nakajima H. Allergic contact dermatitis due to ethyl alcohol. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1998 Apr;38(4):233.
95. Rilliet A, Hunziker N, Brun R. Alcohol contact urticaria syndrome (immediate-type hypersensitivity). Case report. *Dermatologica*. SWITZERLAND; 1980;161(6):361–4.
96. Guin JD, Goodman J. Contact urticaria from benzyl alcohol presenting as intolerance to saline soaks. *Contact Dermatitis*. Denmark; 2001 Sep;45(3):182–3.
97. Podda M, Zollner T, Grundmann-Kollmann M, Kaufmann R, Boehncke WH. Allergic contact dermatitis from benzyl alcohol during topical antimycotic treatment. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1999 Nov;41(5):302–3.

98. Yesudian PD, King CM. Allergic contact dermatitis from stearyl alcohol in Efudix cream. *Contact Dermatitis*. Denmark; 2001 Nov;45(5):313–4.
99. Aust LB, Maibach HI. Incidence of human skin sensitization to isostearyl alcohol in two separate groups of panelists. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1980 Jun;6(4):269–71.
100. Funk JO, Maibach HI. Propylene glycol dermatitis: re-evaluation of an old problem. *Contact Dermatitis*. DENMARK; 1994 Oct;31(4):236–41.
101. Lowbury EJ. Gram-negative bacilli on the skin. *Br J Dermatol*. ENGLAND; 1969;81:Suppl 1:55+.
102. Noble WC. Distribution of the Micrococcaceae. *Br J Dermatol*. ENGLAND; 1969;81:Suppl 1:27+.
103. McBride ME, Duncan WC, Bodey GP, McBride CM. Microbial skin flora of selected cancer patients and hospital personnel. *J Clin Microbiol*. UNITED STATES; 1976 Jan;3(1):14–20.
104. Casewell MW et al. The role of hands in nosocomial gram-negative infection. In: Maibach HI AR, editor. *Skin microbiology relevance to clinical infection*. New York: Springer-Verlag; 1981. p. 192–202.
105. Larson EL, Cronquist AB, Whittier S, Lai L, Lyle CT, Della Latta P. Differences in skin flora between inpatients and chronically ill outpatients. *Heart Lung*. UNITED STATES; 2000;29(4):298–305.
106. Larson EL, McGinley KJ, Foglia AR, Talbot GH, Leyden JJ. Composition and antimicrobial resistance of skin flora in hospitalized and healthy adults. *J Clin Microbiol*. UNITED STATES; 1986 Mar;23(3):604–8.
107. Ehrenkranz NJ, Alfonso BC. Failure of bland soap handwash to prevent hand transfer of patient bacteria to urethral catheters. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1991 Nov;12(11):654–62.
108. Sanderson PJ, Weissler S. Recovery of coliforms from the hands of nurses and patients: activities leading to contamination. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1992 Jun;21(2):85–93.
109. Coello R, Jimenez J, Garcia M, Arroyo P, Minguez D, Fernandez C, et al. Prospective study of infection, colonization and carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. GERMANY; 1994 Jan;13(1):74–81.
110. Sanford MD, Widmer AF, Bale MJ, Jones RN, Wenzel RP. Efficient detection and long-term persistence of the carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. UNITED STATES; 1994 Dec;19(6):1123–8.
111. Bertone SA, Fisher MC, Mortensen JE. Quantitative skin cultures at potential catheter sites in neonates. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1994 May;15(5):315–8.

112. Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, van Voorhis J, Matushek M, Slaughter S, et al. Epidemiology of colonisation of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*. ENGLAND; 1996 Dec;348(9042):1615–9.
113. Polakoff S, Richards ID, Parker MT, Lidwell OM. Nasal and skin carriage of *Staphylococcus aureus* by patients undergoing surgical operation. *J Hyg (Lond)*. ENGLAND; 1967 Dec;65(4):559–66.
114. Leyden JJ, McGinley KJ, Nordstrom KM, Webster GF. Skin microflora. *J Invest Dermatol*. UNITED STATES; 1987 Mar;88(3 Suppl):65s – 72s.
115. Tuazon CU, Perez A, Kishaba T, Sheagren JN. *Staphylococcus aureus* among insulin-injecting diabetic patients. An increased carrier rate. *JAMA*. UNITED STATES; 1975 Mar;231(12):1272.
116. Kaplowitz LG, Comstock JA, Landwehr DM, Dalton HP, Mayhall CG. Prospective study of microbial colonization of the nose and skin and infection of the vascular access site in hemodialysis patients. *J Clin Microbiol*. UNITED STATES; 1988 Jul;26(7):1257–62.
117. Aly R, Maibach HI, Shinefield HR. Microbial flora of atopic dermatitis. *Arch Dermatol*. UNITED STATES; 1977 Jun;113(6):780–2.
118. Kirmani N, Tuazon CU, Murray HW, Parrish AE, Sheagren JN. *Staphylococcus aureus* carriage rate of patients receiving long-term hemodialysis. *Arch Intern Med*. UNITED STATES; 1978 Nov;138(11):1657–9.
119. Goldblum SE, Ulrich JA, Goldman RS, Reed WP. Nasal and cutaneous flora among hemodialysis patients and personnel: quantitative and qualitative characterization and patterns of *Staphylococcal* carriage. *Am J Kidney Dis*. UNITED STATES; 1982 Sep;2(2):281–6.
120. Boelaert JR, Van Landuyt HW, Gordts BZ, De Baere YA, Messer SA, Herwaldt LA. Nasal and cutaneous carriage of *Staphylococcus aureus* in hemodialysis patients: the effect of nasal mupirocin. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1996 Dec;17(12):809–11.
121. Zimakoff J, Bangsgaard Pedersen F, Bergen L, Baago-Nielsen J, Daldorph B, Espersen F, et al. *Staphylococcus aureus* carriage and infections among patients in four haemo- and peritoneal-dialysis centres in Denmark. The Danish Study Group of Peritonitis in Dialysis (DASPID). *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1996 Aug;33(4):289–300.
122. Bibel DJ, Greenberg JH, Cook JL. *Staphylococcus aureus* and the microbial ecology of atopic dermatitis. *Can J Microbiol*. CANADA; 1977 Aug;23(8):1062–8.
123. Noble WC. Dispersal of skin microorganisms. *Br J Dermatol*. ENGLAND; 1975 Oct;93(4):477–85.
124. Walter CW, Kundsinn RB, Shilkret MA, Day MM. The spread of staphylococci to the environment. *Antibiot Annu*. Not Available; 6:952–7.

125. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Potter-Bynoe G, Sherman CB, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol.* UNITED STATES; 1994 May;32(5):1148–53.
126. Griffith CJ, Malik R, Cooper RA, Looker N, Michaels B. Environmental surface cleanliness and the potential for contamination during handwashing. *Am J Infect Control.* United States; 2003 Apr;31(2):93–6.
127. Lidwell OM, Towers AG, Ballard J, Gladstone B. Transfer of micro-organisms between nurses and patients in a clean air environment. *J Appl Bacteriol.* ENGLAND; 1974 Dec;37(4):649–56.
128. Casewell M, Phillips I. Hands as route of transmission for *Klebsiella* species. *Br Med J.* ENGLAND; 1977 Nov;2(6098):1315–7.
129. Hall CB, Douglas RGJ. Modes of transmission of respiratory syncytial virus. *J Pediatr.* UNITED STATES; 1981 Jul;99(1):100–3.
130. Olsen RJ, Lynch P, Coyle MB, Cummings J, Bokete T, Stamm WE. Examination gloves as barriers to hand contamination in clinical practice. *JAMA.* UNITED STATES; 1993 Jul;270(3):350–3.
131. Fox MK, Langner SB, Wells RW. How good are hand washing practices? *Am J Nurs.* UNITED STATES; 1974 Sep;74(9):1676–8.
132. Pessoa-Silva CL, Dharan S, Hugonnet S, Touveneau S, Posfay-Barbe K, Pfister R, et al. Dynamics of bacterial hand contamination during routine neonatal care. *Infect Control Hosp Epidemiol.* United States; 2004 Mar;25(3):192–7.
133. Ojajarvi J. Effectiveness of hand washing and disinfection methods in removing transient bacteria after patient nursing. *J Hyg (Lond).* ENGLAND; 1980 Oct;85(2):193–203.
134. Lucet J-C, Rigaud M-P, Mentre F, Kassis N, Deblangy C, Andreumont A, et al. Hand contamination before and after different hand hygiene techniques: a randomized clinical trial. *J Hosp Infect.* England; 2002 Apr;50(4):276–80.
135. McBryde ES, Bradley LC, Whitby M, McElwain DLS. An investigation of contact transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect.* England; 2004 Oct;58(2):104–8.
136. Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol.* UNITED STATES; 1997 Sep;18(9):622–7.
137. Hayden MK et al. The risk of hand and glove contamination by healthcare workers after contact with a VRE (+) patient or the patient's environment. In: *Proceedings of the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* Chicago: American Society of Microbiology; 2001.

138. Ray AJ, Huyen CK, Taub TF, Eckstein EC, Donskey CJ. Nosocomial transmission of vancomycin-resistant enterococci from surfaces. *JAMA*. United States; 2002. p. 1400–1.
139. Bhalla A, Pultz NJ, Gries DM, Ray AJ, Eckstein EC, Aron DC, et al. Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. United States; 2004 Feb;25(2):164–7.
140. Scott E, Bloomfield SF. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J Appl Bacteriol*. ENGLAND; 1990 Mar;68(3):271–8.
141. Bauer TM et al. An epidemiological study assessing the relative importance of airborne and direct contact transmission of microorganisms in a medical intensive care unit. *J Hosp Infect*. 1990;15:301–9.
142. Daschner FD. How cost-effective is the present use of antiseptics? *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1988 Feb;11 Suppl A:227–35.
143. Knittle MA, Eitzman D V, Baer H. Role of hand contamination of personnel in the epidemiology of gram-negative nosocomial infections. *J Pediatr*. UNITED STATES; 1975 Mar;86(3):433–7.
144. Ayliffe GA, Babb JR, Davies JG, Lilly HA. Hand disinfection: a comparison of various agents in laboratory and ward studies. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1988 Apr;11(3):226–43.
145. Strausbaugh LJ, Sewell DL, Ward TT, Pfaller MA, Heitzman T, Tjoelker R. High frequency of yeast carriage on hands of hospital personnel. *J Clin Microbiol*. UNITED STATES; 1994 Sep;32(9):2299–300.
146. Waters V, Larson E, Wu F, San Gabriel P, Haas J, Cimiotti J, et al. Molecular epidemiology of gram-negative bacilli from infected neonates and health care workers' hands in neonatal intensive care units. *Clin Infect Dis*. United States; 2004 Jun;38(12):1682–7.
147. Tenorio AR, Badri SM, Sahgal NB, Hota B, Matushek M, Hayden MK, et al. Effectiveness of gloves in the prevention of hand carriage of vancomycin-resistant enterococcus species by health care workers after patient care. *Clin Infect Dis*. United States; 2001 Mar;32(5):826–9.
148. Musa EK, Desai N, Casewell MW. The survival of *Acinetobacter calcoaceticus* inoculated on fingertips and on formica. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1990 Apr;15(3):219–27.
149. Fryklund B, Tullus K, Burman LG. Survival on skin and surfaces of epidemic and non-epidemic strains of enterobacteria from neonatal special care units. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1995 Mar;29(3):201–8.
150. Noskin GA, Stosor V, Cooper I, Peterson LR. Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1995 Oct;16(10):577–81.

151. Doring G, Jansen S, Noll H, Grupp H, Frank F, Botzenhart K, et al. Distribution and transmission of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in a hospital ward. *Pediatr Pulmonol.* UNITED STATES; 1996 Feb;21(2):90–100.
152. Islam MS, Hossain MZ, Khan SI, Felsenstein A, Sack RB, Albert MJ. Detection of non-culturable *Shigella dysenteriae* 1 from artificially contaminated volunteers' fingers using fluorescent antibody and PCR techniques. *J Diarrhoeal Dis Res.* BANGLADESH; 1997 Jun;15(2):65–70.
153. Ansari SA, Sattar SA, Springthorpe VS, Wells GA, Tostowaryk W. Rotavirus survival on human hands and transfer of infectious virus to animate and nonporous inanimate surfaces. *J Clin Microbiol.* UNITED STATES; 1988 Aug;26(8):1513–8.
154. Ansari SA, Springthorpe VS, Sattar SA, Rivard S, Rahman M. Potential role of hands in the spread of respiratory viral infections: studies with human parainfluenza virus 3 and rhinovirus 14. *J Clin Microbiol.* UNITED STATES; 1991 Oct;29(10):2115–9.
155. Larson EL, Eke PI, Wilder MP, Laughon BE. Quantity of soap as a variable in handwashing. *Infect Control.* UNITED STATES; 1987 Sep;8(9):371–5.
156. Kac G, Podglajen I, Gueneret M, Vaupre S, Bissery A, Meyer G. Microbiological evaluation of two hand hygiene procedures achieved by healthcare workers during routine patient care: a randomized study. *J Hosp Infect.* England; 2005 May;60(1):32–9.
157. Trick WE, Vernon MO, Hayes RA, Nathan C, Rice TW, Peterson BJ, et al. Impact of ring wearing on hand contamination and comparison of hand hygiene agents in a hospital. *Clin Infect Dis.* United States; 2003 Jun;36(11):1383–90.
158. McNeil SA, Foster CL, Hedderwick SA, Kauffman CA. Effect of hand cleansing with antimicrobial soap or alcohol-based gel on microbial colonization of artificial fingernails worn by health care workers. *Clin Infect Dis.* United States; 2001 Feb;32(3):367–72.
159. Sala MR, Cardenosa N, Arias C, Llovet T, Recasens A, Dominguez A, et al. An outbreak of food poisoning due to a genogroup I norovirus. *Epidemiol Infect.* England; 2005 Feb;133(1):187–91.
160. Harrison WA, Griffith CJ, Ayers T, Michaels B. Bacterial transfer and cross-contamination potential associated with paper-towel dispensing. *Am J Infect Control.* United States; 2003 Nov;31(7):387–91.
161. Barker J, Vipond IB, Bloomfield SF. Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces. *J Hosp Infect.* England; 2004 Sep;58(1):42–9.
162. Foca M, Jakob K, Whittier S, Della Latta P, Factor S, Rubenstein D, et al. Endemic *Pseudomonas aeruginosa* infection in a neonatal intensive care unit. *N Engl J Med.* UNITED STATES; 2000 Sep;343(10):695–700.
163. Sartor C, Jacomo V, Duvivier C, Tissot-Dupont H, Sambuc R, Drancourt M. Nosocomial *Serratia marcescens* infections associated with extrinsic contamination

- of a liquid nonmedicated soap. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 2000 Mar;21(3):196–9.
164. Grohskopf LA, Roth VR, Feikin DR, Arduino MJ, Carson LA, Tokars JL, et al. *Serratia liquefaciens* bloodstream infections from contamination of epoetin alfa at a hemodialysis center. *N Engl J Med*. United States; 2001 May;344(20):1491–7.
  165. Duckro AN, Blom DW, Lyle EA, Weinstein RA, Hayden MK. Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands. *Arch Intern Med*. United States; 2005 Feb;165(3):302–7.
  166. Boyce JM, Potter-Bynoe G, Opal SM, Dziobek L, Medeiros AA. A common-source outbreak of *Staphylococcus epidermidis* infections among patients undergoing cardiac surgery. *J Infect Dis*. UNITED STATES; 1990 Mar;161(3):493–9.
  167. Zawacki A, O'Rourke E, Potter-Bynoe G, Maccone A, Harbarth S, Goldmann D. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia and bloodstream infection associated with intermittent otitis externa in a healthcare worker. *Infect Control Hosp Epidemiol*. United States; 2004 Dec;25(12):1083–9.
  168. El Shafie SS, Alishaq M, Leni Garcia M. Investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in trauma intensive care unit. *J Hosp Infect*. England; 2004 Feb;56(2):101–5.
  169. Passaro DJ, Waring L, Armstrong R, Bolding F, Bouvier B, Rosenberg J, et al. Postoperative *Serratia marcescens* wound infections traced to an out-of-hospital source. *J Infect Dis*. UNITED STATES; 1997 Apr;175(4):992–5.
  170. Chang HJ, Miller HL, Watkins N, Arduino MJ, Ashford DA, Midgley G, et al. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. *N Engl J Med*. UNITED STATES; 1998 Mar;338(11):706–11.
  171. Mackintosh CA, Hoffman PN. An extended model for transfer of micro-organisms via the hands: differences between organisms and the effect of alcohol disinfection. *J Hyg (Lond)*. ENGLAND; 1984 Jun;92(3):345–55.
  172. Sattar SA, Springthorpe S, Mani S, Gallant M, Nair RC, Scott E, et al. Transfer of bacteria from fabrics to hands and other fabrics: development and application of a quantitative method using *Staphylococcus aureus* as a model. *J Appl Microbiol*. England; 2001 Jun;90(6):962–70.
  173. Bonten MJ, Austin DJ, Lipsitch M. Understanding the spread of antibiotic resistant pathogens in hospitals: mathematical models as tools for control. *Clin Infect Dis*. United States; 2001 Nov;33(10):1739–46.
  174. Seville V, Chevret S, Valleron AJ. Modeling the spread of resistant nosocomial pathogens in an intensive-care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1997 Feb;18(2):84–92.
  175. Austin DJ, Bonten MJ, Weinstein RA, Slaughter S, Anderson RM. Vancomycin-resistant enterococci in intensive-care hospital settings: transmission dynamics,

- persistence, and the impact of infection control programs. *Proc Natl Acad Sci U S A. UNITED STATES*; 1999 Jun;96(12):6908–13.
176. Hotchkiss JR, Strike DG, Simonson DA, Broccard AF, Crooke PS. An agent-based and spatially explicit model of pathogen dissemination in the intensive care unit. *Crit Care Med. United States*; 2005 Jan;33(1):164–8.
  177. Grundmann H, Hori S, Winter B, Tami A, Austin DJ. Risk factors for the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an adult intensive care unit: fitting a model to the data. *J Infect Dis. United States*; 2002 Feb;185(4):481–8.
  178. Cooper BS, Medley GF, Scott GM. Preliminary analysis of the transmission dynamics of nosocomial infections: stochastic and management effects. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1999 Oct;43(2):131–47.
  179. Larson E. A causal link between handwashing and risk of infection? Examination of the evidence. *Infect Control Hosp Epidemiol. United States*; 1988 Jan;9(1):28–36.
  180. Larson E. Skin hygiene and infection prevention: more of the same or different approaches? *Clin Infect Dis. UNITED STATES*; 1999 Nov;29(5):1287–94.
  181. Webster J, Faoagali JL, Cartwright D. Elimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a neonatal intensive care unit after hand washing with triclosan. *J Paediatr Child Health. AUSTRALIA*; 1994 Feb;30(1):59–64.
  182. Zafar AB, Butler RC, Reese DJ, Gaydos LA, Mennonna PA. Use of 0.3% triclosan (Bacti-Stat) to eradicate an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal nursery. *Am J Infect Control. UNITED STATES*; 1995 Jun;23(3):200–8.
  183. Fridkin SK, Pear SM, Williamson TH, Galgiani JN, Jarvis WR. The role of understaffing in central venous catheter-associated bloodstream infections. *Infect Control Hosp Epidemiol. UNITED STATES*; 1996 Mar;17(3):150–8.
  184. Vicca AF. Nursing staff workload as a determinant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* spread in an adult intensive therapy unit. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1999 Oct;43(2):109–13.
  185. Harbarth S, Sudre P, Dharan S, Cadenas M, Pittet D. Outbreak of *Enterobacter cloacae* related to understaffing, overcrowding, and poor hygiene practices. *Infect Control Hosp Epidemiol. UNITED STATES*; 1999 Sep;20(9):598–603.
  186. Robert J, Fridkin SK, Blumberg HM, Anderson B, White N, Ray SM, et al. The influence of the composition of the nursing staff on primary bloodstream infection rates in a surgical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol. UNITED STATES*; 2000 Jan;21(1):12–7.
  187. Archibald LK, Manning ML, Bell LM, Banerjee S, Jarvis WR. Patient density, nurse-to-patient ratio and nosocomial infection risk in a pediatric cardiac intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J. UNITED STATES*; 1997 Nov;16(11):1045–8.
  188. Eggimann P et al. Reply to letter by Tulleken et al. *Intensive Care Med.* 2004;30:998–9.



189. Hugonnet S, Harbarth S, Sax H, Duncan RA, Pittet D. Nursing resources: a major determinant of nosocomial infection? *Curr Opin Infect Dis. United States*; 2004 Aug;17(4):329–33.
190. Pessoa-Silva CL, Toscano CM, Moreira BM, Santos AL, Frota ACC, Solari CA, et al. Infection due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype infantis in a neonatal unit. *J Pediatr. United States*; 2002 Sep;141(3):381–7.
191. Woolwine JD, Gerberding JL. Effect of testing method on apparent activities of antiviral disinfectants and antiseptics. *Antimicrob Agents Chemother. UNITED STATES*; 1995 Apr;39(4):921–3.
192. Messenger S, Hann AC, Goddard PA, Dettmar PW, Maillard J-Y. Use of the “ex vivo” test to study long-term bacterial survival on human skin and their sensitivity to antiseptics. *J Appl Microbiol. England*; 2004;97(6):1149–60.
193. Larson E, Rotter ML. Handwashing: are experimental models a substitute for clinical trials? Two viewpoints. *Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]*. 1990 Feb [cited 2014 Mar 3];11(2):63–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2179399>
194. Maki DG. The use of antiseptics for handwashing by medical personnel. *J Chemother. ITALY*; 1989 Apr;1 Suppl 1:3–11.
195. Massanari RM et al. A crossover comparison of antiseptic soaps on nosocomial infection rates in intensive care units. *Am J Infect Control*. 1984;12:247–8.
196. Food and Drug Administration. Tentative final monograph for healthcare antiseptic drug products; proposed rule. 1994. 59:31441-31452 p.
197. Pittet D et al. Alcohol-based hand gels and hand hygiene in hospitals. *Lancet*. 2002;360:1511.
198. Standardization ECF. Chemical disinfectants and antiseptics - hygienic handrub - test method and requirements. 1997.
199. ASTM International. Standard test method for evaluation of the effectiveness of health care personnel or consumer hand wash formulations. 1999.
200. Kramer A, Rudolph P, Kampf G, Pittet D. Limited efficacy of alcohol-based hand gels. *Lancet. England*; 2002 Apr;359(9316):1489–90.
201. ASTM International. Standard test method for determining the virus-eliminating effectiveness of liquid hygienic hand wash and hand rub agents using the finger pads of adult volunteers. 2002.
202. Gehrke C, Steinmann J, Goroncy-Bermes P. Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of norovirus (formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol in vitro and in vivo. *J Hosp Infect. England*; 2004 Jan;56(1):49–55.

203. ASTM International. Standard test method for determining the bacteria-eliminating effectiveness of liquid hygienic hand wash and hand rub agents using the finger pads of adult volunteers. 2003.
204. ASTM International. Standard test method for evaluation of hand washing formulations for virus-eliminating activity using the entire hand. 1999.
205. UNE-EN 12791. Antisépticos y desinfectantes químicos. Desinfección quirúrgica de las manos. Requisitos y métodos de ensayo (fase 2/etapa 2).
206. ASTM International. Test method for evaluation of surgical hand scrub formulations. 2002.
207. European Standard EN 1499. Chemical disinfectants and antiseptic. Hygienic hand wash. Test method and requirements. 1997.
208. Gould D, Ream E. Assessing nurses' hand decontamination performance. *Nurs Times*. ENGLAND; 1993 Jun;89(25):47-50.
209. Quraishi ZA, McGuckin M, Blais FX. Duration of handwashing in intensive care units: a descriptive study. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1984 Apr;12(2):83-7.
210. Lund S, Jackson J, Leggett J, Hales L, Dworkin R, Gilbert D. Reality of glove use and handwashing in a community hospital. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1994 Dec;22(6):352-7.
211. Meengs MR, Giles BK, Chisholm CD, Cordell WH, Nelson DR. Hand washing frequency in an emergency department. *J Emerg Nurs*. UNITED STATES; 1994 Jun;20(3):183-8.
212. Larson E, McGeer A, Quraishi ZA, Krenzischek D, Parsons BJ, Holdford J, et al. Effect of an automated sink on handwashing practices and attitudes in high-risk units. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1991 Jul;12(7):422-8.
213. Broughall JM, Marshman C, Jackson B, Bird P. An automatic monitoring system for measuring handwashing frequency in hospital wards. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1984 Dec;5(4):447-53.
214. Rotter ML, Koller W. Test models for hygienic handrub and hygienic handwash: the effects of two different contamination and sampling techniques. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1992 Mar;20(3):163-71.
215. Aly R, Maibach HI. A comparison of the antimicrobial effect of 0.5% chlorhexidine (Hibistat) and 70% isopropyl alcohol on hands contaminated with *Serratia marcescens*. *Clin Exp Dermatol*. ENGLAND; 1980 Jun;5(2):197-201.
216. Casewell MW, Law MM, Desai N. A laboratory model for testing agents for hygienic hand disinfection: handwashing and chlorhexidine for the removal of *klebsiella*. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1988 Oct;12(3):163-75.

217. Rotter ML, Koller W. A laboratory model for testing agents for hygienic hand disinfection: handwashing and chlorhexidine for the removal of *Klebsiella*. *The Journal of hospital infection*. ENGLAND; 1990. p. 189–95.
218. World Health Organization. *Guidelines for Drinking-water Quality*. Geneva; 2004.
219. Anaissie EJ, Penzak SR, Dignani MC. The hospital water supply as a source of nosocomial infections: a plea for action. *Arch Intern Med*. UNITED STATES; 2002 Jul;162(13):1483–92.
220. Aronson T, Holtzman A, Glover N, Boian M, Froman S, Berlin OG, et al. Comparison of large restriction fragments of *Mycobacterium avium* isolates recovered from AIDS and non-AIDS patients with those of isolates from potable water. *J Clin Microbiol*. UNITED STATES; 1999 Apr;37(4):1008–12.
221. Darelid J, Bengtsson L, Gastrin B, Hallander H, Lofgren S, Malmvall BE, et al. An outbreak of Legionnaires' disease in a Swedish hospital. *Scand J Infect Dis*. SWEDEN; 1994;26(4):417–25.
222. Lowry PW, Blankenship RJ, Gridley W, Troup NJ, Tompkins LS. A cluster of legionella sternal-wound infections due to postoperative topical exposure to contaminated tap water. *N Engl J Med*. UNITED STATES; 1991 Jan;324(2):109–13.
223. Bert F, Maubec E, Bruneau B, Berry P, Lambert-Zechovsky N. Multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak associated with contaminated tap water in a neurosurgery intensive care unit. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1998 May;39(1):53–62.
224. Trautmann M, Michalsky T, Wiedeck H, Radosavljevic V, Ruhnke M. Tap water colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *Pseudomonas* infections of ICU patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 2001 Jan;22(1):49–52.
225. Weber DJ, Rutala WA, Blanchet CN, Jordan M, Gergen MF. Faucet aerators: A source of patient colonization with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1999 Feb;27(1):59–63.
226. Von Reyn CF, Maslow JN, Barber TW, Falkinham JO 3rd, Arbeit RD. Persistent colonisation of potable water as a source of *Mycobacterium avium* infection in AIDS. *Lancet*. ENGLAND; 1994 May;343(8906):1137–41.
227. Kauppinen J, Nousiainen T, Jantunen E, Mattila R, Katila ML. Hospital water supply as a source of disseminated *Mycobacterium fortuitum* infection in a leukemia patient. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1999 May;20(5):343–5.
228. Wallace RJJ, Musser JM, Hull SI, Silcox VA, Steele LC, Forrester GD, et al. Diversity and sources of rapidly growing mycobacteria associated with infections following cardiac surgery. *J Infect Dis*. UNITED STATES; 1989 Apr;159(4):708–16.
229. Anaissie EJ. Emerging fungal infections, don't drink the water. In: American Society for Microbiology, editor. *Proceedings of the 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. San Diego, California, USA; 1998.

230. Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, Summerbell RC, Rex JH, Monson TP, et al. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. *Clin Infect Dis. United States*; 2002 Mar;34(6):780–9.
231. LeChevallier M. The case for maintaining a disinfectant residual. *J Am Water Work Assoc.* 1999;91:86–94.
232. Twort AC, Ratnayaka DD BM. *Water Supply*. 5th ed. London: Arnold; 2003.
233. Shahid NS, Greenough WB 3rd, Samadi AR, Huq MI, Rahman N. Hand washing with soap reduces diarrhoea and spread of bacterial pathogens in a Bangladesh village. *J Diarrhoeal Dis Res. BANGLADESH*; 1996 Jun;14(2):85–9.
234. Squier, Yu, Stout. Waterborne Nosocomial Infections. *Curr Infect Dis Rep.* 2000 Dec;2(6):490–6.
235. Reiff FM, Roses M, Venczel L, Quick R, Witt VM. Low-cost safe water for the world: a practical interim solution. *J Public Health Policy. UNITED STATES*; 1996;17(4):389–408.
236. Krumm S. Water temperature doesn't affect hand washing [Internet]. 2002 [cited 2006 Jan 15]. Available from: ([www.ljworld.com/section/](http://www.ljworld.com/section/)
237. Strang M et al. Hot water and hand washing (e-mail discussion list). [Internet]. 2003 [cited 2006 Jan 15]. Available from: [www.listproc](http://www.listproc).
238. Gustafson DR, Vetter EA, Larson DR, Ilstrup DM, Maker MD, Thompson RL, et al. Effects of 4 hand-drying methods for removing bacteria from washed hands: a randomized trial. *Mayo Clin Proc. UNITED STATES*; 2000 Jul;75(7):705–8.
239. Ansari SA, Springthorpe VS, Sattar SA, Tostowaryk W, Wells GA. Comparison of cloth, paper, and warm air drying in eliminating viruses and bacteria from washed hands. *Am J Infect Control [Internet]*. [cited 2014 Feb 23];19(5):243–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1661567>
240. Yamamoto Y, Ugai K, Takahashi Y. Efficiency of hand drying for removing bacteria from washed hands: comparison of paper towel drying with warm air drying. *Infect Control Hosp Epidemiol. United States*; 2005 Mar;26(3):316–20.
241. Ngeow YF, Ong HW, Tan P. Dispersal of bacteria by an electric air hand dryer. *Malays J Pathol. MALAYSIA*; 1989 Aug;11:53–6.
242. Bottone EJ, Cheng M, Hymes S. Ineffectiveness of handwashing with lotion soap to remove nosocomial bacterial pathogens persisting on fingertips: a major link in their intrahospital spread. *Infect Control Hosp Epidemiol. United States*; 2004 Mar;25(3):262–4.
243. Meers PD, Yeo GA. Shedding of bacteria and skin squames after handwashing. *J Hyg (Lond). ENGLAND*; 1978 Aug;81(1):99–105.
244. Maki D et al. Evaluation of the antibacterial efficacy of four agents for handwashing. *Curr Chemother Infect Dis.* 1979;11:1089–90.

245. Boyce JM, Kelliher S, Vallande N. Skin irritation and dryness associated with two hand-hygiene regimens: soap-and-water hand washing versus hand antisepsis with an alcoholic hand gel. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 2000 Jul;21(7):442–8.
246. Bannan EA, Judge LF. Bacteriological studies relating to handwashing. 1.The inability of soap bars to transmit bacteria. *Am J Public Health Nations Health*. UNITED STATES; 1965 Jun;55:915–22.
247. Heinze JE, Yackovich F. Washing with contaminated bar soap is unlikely to transfer bacteria. *Epidemiol Infect*. ENGLAND; 1988 Aug;101(1):135–42.
248. Hardin WD NR. Handwashing and patient skin preparation. *Crit Issues Oper Room Manag*. 1997;133–49.
249. Mayhall CG. Surgical infections including burns. In: Wenzel R, editor. *Prevention and Control of Nosocomial Infections*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p. 614–64.
250. Rubio PA. Septisol antiseptic foam: a sensible alternative to the conventional surgical scrub. *Int Surg [Internet]*. Jan [cited 2014 Jun 22];72(4):243–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3448039>
251. Walter CW. Disinfection of hands. *Am J Surg*. UNITED STATES; 1965 Jun;109:691–3.
252. Gravens DL, Butcher HRJ, Ballinger WF, Dewar NE. Septisol antiseptic foam for hands of operating room personnel: an effective antibacterial agent. *Surgery*. UNITED STATES; 1973 Mar;73(3):360–7.
253. Eitzen HE, Ritter MA, French ML, Gioe TJ. A microbiological in-use comparison of surgical hand-washing agents. *J Bone Joint Surg Am*. UNITED STATES; 1979 Apr;61(3):403–6.
254. Minakuchi K, Yamamoto Y, Matsunaga K, Hayata M, Yasuda T, Katsuno Y, et al. The antiseptic effect of a quick drying rubbing type povidone-iodine alcoholic disinfectant solution. *Postgrad Med J*. ENGLAND; 1993;69 Suppl 3:S23–6.
255. Babb JR, Davies JG, Ayliffe GA. A test procedure for evaluating surgical hand disinfection. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1991 Jun;18 Suppl B:41–9.
256. Bellamy K, Alcock R, Babb JR, Davies JG, Ayliffe GA. A test for the assessment of “hygienic” hand disinfection using rotavirus. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1993 Jul;24(3):201–10.
257. Ayliffe GA, Babb JR, Quoraishi AH. A test for “hygienic” hand disinfection. *J Clin Pathol*. ENGLAND; 1978 Oct;31(10):923–8.
258. Lilly HA, Lowbury EJ, Wilkins MD. Detergents compared with each other and with antiseptics as skin “degerming” agents. *J Hyg (Lond)*. ENGLAND; 1979 Feb;82(1):89–93.

259. Ulrich J.A. Clinical study comparing hibistat (0.5% chlorhexidine gluconate in 70% isopropyl alcohol) and betadine surgical scrub (7.5% povidone-iodine) for efficacy against experimental contamination of human skin. *Curr Ther Res.* 1982;31:27–30.
260. Bartzokas CA, Gibson MF, Graham R, Pinder DC. A comparison of triclosan and chlorhexidine preparations with 60 per cent isopropyl alcohol for hygienic hand disinfection. *J Hosp Infect. ENGLAND;* 1983 Sep;4(3):245–55.
261. Rotter ML, Koller W, Wewalka G, Werner HP, Ayliffe GA, Babb JR. Evaluation of procedures for hygienic hand-disinfection: controlled parallel experiments on the Vienna test model. *J Hyg (Lond). ENGLAND;* 1986 Feb;96(1):27–37.
262. Kjolen H, Andersen BM. Handwashing and disinfection of heavily contaminated hands--effective or ineffective? *J Hosp Infect. ENGLAND;* 1992 May;21(1):61–71.
263. Namura S, Nishijima S, Asada Y. An evaluation of the residual activity of antiseptic handrub lotions: an “in use” setting study. *J Dermatol. JAPAN;* 1994 Jul;21(7):481–5.
264. Jarvis JD, Wynne CD, Enwright L, Williams JD. Handwashing and antiseptic-containing soaps in hospital. *J Clin Pathol. ENGLAND;* 1979 Jul;32(7):732–7.
265. Pereira LJ, Lee GM, Wade KJ. An evaluation of five protocols for surgical handwashing in relation to skin condition and microbial counts. *J Hosp Infect. ENGLAND;* 1997 May;36(1):49–65.
266. Larson E.L. et al. Alcohol for surgical scrubbing? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1990;11:139–43.
267. Aly R, Maibach HI. Comparative study on the antimicrobial effect of 0.5% chlorhexidine gluconate and 70% isopropyl alcohol on the normal flora of hands. *Appl Environ Microbiol. UNITED STATES;* 1979 Mar;37(3):610–3.
268. Galle PC, Homesley HD, Rhyne AL. Reassessment of the surgical scrub. *Surg Gynecol Obstet. UNITED STATES;* 1978 Aug;147(2):215–8.
269. Ayliffe GA, Bridges K, Lilly HA, Lowbury EJ, Varney J, Wilkins MD. Comparison of two methods for assessing the removal of total organisms and pathogens from the skin. *J Hyg (Lond). ENGLAND;* 1975 Oct;75(2):259–74.
270. Larson EL, Eke PI, Laughon BE. Efficacy of alcohol-based hand rinses under frequent-use conditions. *Antimicrob Agents Chemother. UNITED STATES;* 1986 Oct;30(4):542–4.
271. Larson EL MH. Alcohols. In: Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation.* 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991. p. 191–203.
272. Price PB. Ethyl alcohol as a germicide. *Arch Surg.* 1939;38:528–42.
273. Harrington C WH. The germicidal action of alcohol. *Bost Med Surg J.* 1903;148:548–52.

274. Price PB. New studies in surgical bacteriology and surgical technique. JAMA. 1938;111:1993–6.
275. Coulthard CE et al. The germicidal effect of alcohol with special reference to its action on bacterial spores. Pharm Jorunal. 1936;137:79–81.
276. Pohle WD et al. The germicidal action of cleaning agents - a study of a modification of Price's procedure. J Infect Dis. 1940;67:275–81.
277. Gardner AD. Rapid disinfection of clean unwashed skin; further experiments. Lancet. Not Available; 1948 Nov;2(6533):760–3.
278. Sakuragi T, Yanagisawa K, Dan K. Bactericidal activity of skin disinfectants on methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Anesth Analg. UNITED STATES; 1995 Sep;81(3):555–8.
279. Kampf G, Jarosch R, Ruden H. Limited effectiveness of chlorhexidine based hand disinfectants against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). J Hosp Infect. ENGLAND; 1998 Apr;38(4):297–303.
280. Kampf G, Hofer M, Wendt C. Efficacy of hand disinfectants against vancomycin-resistant enterococci in vitro. J Hosp Infect. ENGLAND; 1999 Jun;42(2):143–50.
281. Platt J, Bucknall RA. The disinfection of respiratory syncytial virus by isopropanol and a chlorhexidine-detergent handwash. J Hosp Infect. ENGLAND; 1985 Mar;6(1):89–94.
282. Krilov LR, Harkness SH. Inactivation of respiratory syncytial virus by detergents and disinfectants. Pediatr Infect Dis J. UNITED STATES; 1993 Jul;12(7):582–4.
283. Sattar SA, Tetro J, Springthorpe VS, Giulivi A. Preventing the spread of hepatitis B and C viruses: where are germicides relevant? Am J Infect Control. United States; 2001 Jun;29(3):187–97.
284. Pillsbury DM, Nichols AC. Bacterial flora of the normal and infected skin; an evaluation of various methods of performing skin cultures. J Invest Dermatol. Not Available; 1946 Dec;7(6):365–73.
285. Lowbury EJ, Lilly HA, Ayliffe GA. Preoperative disinfection of surgeons' hands: use of alcoholic solutions and effects of gloves on skin flora. Br Med J. ENGLAND; 1974 Nov;4(5941):369–72.
286. Lilly HA, Lowbury EJ, Wilkins MD, Zaggy A. Delayed antimicrobial effects of skin disinfection by alcohol. J Hyg (Lond). ENGLAND; 1979 Jun;82(3):497–500.
287. Gaonkar TA, Geraldo I, Caraos L, Modak SM. An alcohol hand rub containing a synergistic combination of an emollient and preservatives: prolonged activity against transient pathogens. J Hosp Infect. England; 2005 Jan;59(1):12–8.
288. Ansari SA, Sattar SA, Springthorpe VS, Wells GA, Tostowaryk W. In vivo protocol for testing efficacy of hand-washing agents against viruses and bacteria: experiments

- with rotavirus and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. UNITED STATES; 1989 Dec;55(12):3113–8.
289. Sattar SA, Abebe M, Bueti AJ, Jampani H, Newman J, Hua S. Activity of an alcohol-based hand gel against human adeno-, rhino-, and rotaviruses using the fingerpad method. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 2000 Aug;21(8):516–9.
  290. Wolff MH, Schmitt J, Rahaus M, Konig A. Hepatitis A virus: a test method for virucidal activity. *J Hosp Infect*. England; 2001 Aug;48 Suppl A:S18–22.
  291. Steinmann J, Nehr Korn R, Meyer A, Becker K. Two in-vivo protocols for testing virucidal efficacy of handwashing and hand disinfection. *Zentralbl Hyg Umweltmed*. GERMANY; 1995 Jan;196(5):425–36.
  292. Mbithi JN et al. Comparative in vivo efficiencies of hand-washing agents against hepatitis A virus (HM-175) and poliovirus type 1 (Sabin). *Appl Environ Microbiol*. 2000;59:3463–9.
  293. Schurmann W, Eggers HJ. Antiviral activity of an alcoholic hand disinfectant. Comparison of the in vitro suspension test with in vivo experiments on hands, and on individual fingertips. *Antiviral Res*. NETHERLANDS; 1983 Mar;3(1):25–41.
  294. Steinmann J. Surrogate viruses for testing virucidal efficacy of chemical disinfectants. *J Hosp Infect*. England; 2004 Apr;56 Suppl 2:S49–54.
  295. Sickbert-Bennett EE, Weber DJ, Gergen-Teague MF, Sobsey MD, Samsa GP, Rutala WA. Comparative efficacy of hand hygiene agents in the reduction of bacteria and viruses. *Am J Infect Control* [Internet]. 2005 Mar [cited 2014 Mar 3];33(2):67–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15761405>
  296. Larson E, Bobo L. Effective hand degerming in the presence of blood. *J Emerg Med*. UNITED STATES; 1992;10(1):7–11.
  297. Dineen P et al. Antiseptic care of the hands. In: Maibach HI H-SG, editor. *Skin bacteria and their role in infection*. New York: McGraw-Hill; 1965. p. 291–309.
  298. Rotter M, Koller W, Wewalka G. Povidone-iodine and chlorhexidine gluconate-containing detergents for disinfection of hands. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1980 Jun;1(2):149–58.
  299. Rotter ML. Hygienic hand disinfection. *Infect Control*. UNITED STATES; 1984 Jan;5(1):18–22.
  300. Blech MF, Hartemann P, Paquin JL. Activity of non antiseptic soaps and ethanol for hand disinfection. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B*. GERMANY, WEST; 1985 Dec;181(6):496–512.
  301. Leyden JJ, McGinley KJ, Kaminer MS, Bakel J, Nishijima S, Grove MJ, et al. Computerized image analysis of full-hand touch plates: a method for quantification of surface bacteria on hands and the effect of antimicrobial agents. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1991 Jun;18 Suppl B:13–22.



302. Zaragoza M, Sallés M, Gomez J, Bayas JM, Trilla A. Handwashing with soap or alcoholic solutions? A randomized clinical trial of its effectiveness. *Am J Infect Control* [Internet]. 1999 Jun [cited 2014 Jun 25];27(3):258–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10358229>
303. Paulson DS, Fendler EJ, Dolan MJ, Williams RA. A close look at alcohol gel as an antimicrobial sanitizing agent. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1999 Aug;27(4):332–8.
304. Cardoso CL, Pereira HH, Zequim JC, Guilhermetti M. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing *Acinetobacter baumannii* strain from contaminated hands. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1999 Aug;27(4):327–31.
305. Lilly HA, Lowbury EJ. Transient skin flora: their removal by cleansing or disinfection in relation to their mode of deposition. *J Clin Pathol*. ENGLAND; 1978 Oct;31(10):919–22.
306. Jones M V, Rowe GB, Jackson B, Pritchard NJ. The use of alcoholic paper wipes for routine hand cleansing: results of trials in two hospitals. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1986 Nov;8(3):268–74.
307. Butz AM, Laughon BE, Gullette DL, Larson EL. Alcohol-impregnated wipes as an alternative in hand hygiene. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1990 Apr;18(2):70–6.
308. Ojajarvi J. Handwashing in Finland. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1991 Jun;18 Suppl B:35–40.
309. Dharan S, Hugonnet S, Sax H, Pittet D. Comparison of waterless hand antisepsis agents at short application times: raising the flag of concern. *Infect Control Hosp Epidemiol*. United States; 2003 Mar;24(3):160–4.
310. Kampf G, Ostermeyer C. Efficacy of alcohol-based gels compared with simple hand wash and hygienic hand disinfection. *J Hosp Infect*. England; 2004 Apr;56 Suppl 2:S13–5.
311. Newman JL, Seitz JC. Intermittent use of an antimicrobial hand gel for reducing soap-induced irritation of health care personnel. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1990 Jun;18(3):194–200.
312. Rotter ML, Koller W, Neumann R. The influence of cosmetic additives on the acceptability of alcohol-based hand disinfectants. *J Hosp Infect*. ENGLAND; 1991 Jun;18 Suppl B:57–63.
313. Larson EL, Aiello AE, Heilman JM, Lyle CT, Cronquist A, Stahl JB, et al. Comparison of different regimens for surgical hand preparation. *AORN J*. United States; 2001 Feb;73(2):412–4, 417–8, 420 passim.
314. Larson EL, Aiello AE, Bastyr J, Lyle C, Stahl J, Cronquist A, et al. Assessment of two hand hygiene regimens for intensive care unit personnel. *Crit Care Med*. United States; 2001 May;29(5):944–51.

315. Picheansathian W. A systematic review on the effectiveness of alcohol-based solutions for hand hygiene. *Int J Nurs Pract.* Australia; 2004 Feb;10(1):3–9.
316. Hugonnet S, Perneger T V, Pittet D. Alcohol-based handrub improves compliance with hand hygiene in intensive care units. *Arch Intern Med.* United States; 2002 May;162(9):1037–43.
317. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Infection Control Programme.* *Lancet.* ENGLAND; 2000 Oct;356(9238):1307–12.
318. Pittet D, Simon A, Hugonnet S, Pessoa-Silva CL, Sauvan V, Perneger T V. Hand hygiene among physicians: performance, beliefs, and perceptions. *Ann Intern Med.* United States; 2004 Jul;141(1):1–8.
319. Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Pan HL, Ho SW, Luh KT. Nosocomial pseudoepidemic caused by *Bacillus cereus* traced to contaminated ethyl alcohol from a liquor factory. *J Clin Microbiol.* UNITED STATES; 1999 Jul;37(7):2280–4.
320. Narang HK, Codd AA. Action of commonly used disinfectants against enteroviruses. *J Hosp Infect.* ENGLAND; 1983 Jun;4(2):209–12.
321. Walsh B, Blakemore PH, Drabu YJ. The effect of handcream on the antibacterial activity of chlorhexidine gluconate. *J Hosp Infect.* ENGLAND; 1987 Jan;9(1):30–3.
322. Lowbury EJ, Lilly HA. Use of 4 per cent chlorhexidine detergent solution (Hibiscrub) and other methods of skin disinfection. *Br Med J.* ENGLAND; 1973 Mar;1(5852):510–5.
323. Paulson DS. Comparative evaluation of five surgical hand scrub preparations. *AORN J.* UNITED STATES; 1994 Aug;60(2):246,249–56.
324. Stingeni L, Lapomarda V, Lisi P. Occupational hand dermatitis in hospital environments. *Contact Dermatitis.* DENMARK; 1995 Sep;33(3):172–6.
325. Marrie TJ, Costerton JW. Prolonged survival of *Serratia marcescens* in chlorhexidine. *Appl Environ Microbiol.* UNITED STATES; 1981 Dec;42(6):1093–102.
326. McAllister TA, Lucas CE, Mocan H, Liddell RH, Gibson BE, Hann IM, et al. *Serratia marcescens* outbreak in a paediatric oncology unit traced to contaminated chlorhexidine. *Scott Med J.* SCOTLAND; 1989 Oct;34(5):525–8.
327. Vigeant P, Loo VG, Bertrand C, Dixon C, Hollis R, Pfaller MA, et al. An outbreak of *Serratia marcescens* infections related to contaminated chlorhexidine. *Infect Control Hosp Epidemiol.* UNITED STATES; 1998 Oct;19(10):791–4.
328. Vu-Thien H, Darbord JC, Moissenet D, Dulot C, Dufourcq JB, Marsol P, et al. Investigation of an outbreak of wound infections due to *Alcaligenes xylosoxidans* transmitted by chlorhexidine in a burns unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* GERMANY; 1998 Oct;17(10):724–6.

329. Thomas L, Maillard JY, Lambert RJ, Russell AD. Development of resistance to chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of a "residual" concentration. *J Hosp Infect. England*; 2000 Dec;46(4):297–303.
330. W. G. Iodine and iodine compounds. In: Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991. p. 153–66.
331. Anderson RL. Iodophor antiseptics: intrinsic microbial contamination with resistant bacteria. *Infect Control Hosp Epidemiol. UNITED STATES*; 1989 Oct;10(10):443–6.
332. Goldenheim PD. In vitro efficacy of povidone-iodine solution and cream against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Postgrad Med J. ENGLAND*; 1993;69 Suppl 3:S62–5.
333. Traore O, Fayard SF, Laveran H. An in-vitro evaluation of the activity of povidone-iodine against nosocomial bacterial strains. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1996 Nov;34(3):217–22.
334. McLure AR, Gordon J. In-vitro evaluation of povidone-iodine and chlorhexidine against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1992 Aug;21(4):291–9.
335. Davies JG, Babb JR, Bradley CR, Ayliffe GA. Preliminary study of test methods to assess the virucidal activity of skin disinfectants using poliovirus and bacteriophages. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1993 Oct;25(2):125–31.
336. Huang Y, Oie S, Kamiya A. Comparative effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from experimentally contaminated fingertips. *Am J Infect Control. UNITED STATES*; 1994 Aug;22(4):224–7.
337. Wade JJ, Casewell MW. The evaluation of residual antimicrobial activity on hands and its clinical relevance. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1991 Jun;18 Suppl B:23–8.
338. Kundsins RB, Walter CW. The surgical scrub--practical consideration. *Arch Surg. UNITED STATES*; 1973 Jul;107(1):75–7.
339. Aly R et al. Comparative evaluation of chlorhexidine gluconate (hibiclens) and povidoneiodine (E-Z scrub) sponge/brushes for presurgical hand scrubbing. *Curr Ther Res. 1983*;34:740–5.
340. Herruzo-Cabrera R, Vizcaino-Alcaide MJ, Fdez-Acinero MJ. Usefulness of an alcohol solution of N-duopropenide for the surgical antisepsis of the hands compared with handwashing with iodine-povidone and chlorhexidine: clinical essay. *J Surg Res. UNITED STATES*; 2000 Nov;94(1):6–12.
341. Hingst V, Juditzki I, Heeg P, Sonntag HG. Evaluation of the efficacy of surgical hand disinfection following a reduced application time of 3 instead of 5 min. *J Hosp Infect. ENGLAND*; 1992 Feb;20(2):79–86.
342. Faoagali J, Fong J, George N, Mahoney P, O'Rourke V. Comparison of the immediate, residual, and cumulative antibacterial effects of Novaderm R,\* Novascrub R,\*

Betadine Surgical Scrub, Hibiclens, and liquid soap. *Am J Infect Control* [Internet]. 1995 Dec [cited 2014 Jun 23];23(6):337–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8821108>

343. Pereira LJ, Lee GM, Wade KJ. The effect of surgical handwashing routines on the microbial counts of operating room nurses. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1990 Dec;18(6):354–64.
344. Peterson AF, Rosenberg A, Alatary SD. Comparative evaluation of surgical scrub preparations. *Surg Gynecol Obstet*. UNITED STATES; 1978 Jan;146(1):63–5.
345. Berkelman RL, Holland BW, Anderson RL. Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol*. UNITED STATES; 1982 Apr;15(4):635–9.
346. Berkelman RL, Lewin S, Allen JR, Anderson RL, Budnick LD, Shapiro S, et al. Pseudobacteremia attributed to contamination of povidone-iodine with *Pseudomonas cepacia*. *Ann Intern Med*. UNITED STATES; 1981 Jul;95(1):32–6.
347. Larson E, Talbot GH. An approach for selection of health care personnel handwashing agents. *Infect Control*. UNITED STATES; 1986 Aug;7(8):419–24.
348. Davies J, Babb JR, Ayliffe GA, Wilkins MD. Disinfection of the skin of the abdomen. *Br J Surg*. ENGLAND; 1978 Dec;65(12):855–8.
349. Larson E, Mayur K, Laughon BA. Influence of two handwashing frequencies on reduction in colonizing flora with three handwashing products used by health care personnel. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1989 Apr;17(2):83–8.
350. Soulsby ME, Barnett JB, Maddox S. The antiseptic efficacy of chlorxylenol-containing vs. chlorhexidine gluconate-containing surgical scrub preparations. *Infect Control*. UNITED STATES; 1986 Apr;7(4):223–6.
351. Aly R, Maibach HI. Comparative antibacterial efficacy of a 2-minute surgical scrub with chlorhexidine gluconate, povidone-iodine, and chloroxylenol sponge-brushes. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1988 Aug;16(4):173–7.
352. Archibald LK, Corl A, Shah B, Schulte M, Arduino MJ, Aguero S, et al. *Serratia marcescens* outbreak associated with extrinsic contamination of 1% chlorxylenol soap. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1997 Oct;18(10):704–9.
353. Jones RD, Jampani HB, Newman JL, Lee AS. Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 2000 Apr;28(2):184–96.
354. Ward WH, Holdgate GA, Rowsell S, McLean EG, Pauptit RA, Clayton E, et al. Kinetic and structural characteristics of the inhibition of enoyl (acyl carrier protein) reductase by triclosan. *Biochemistry*. UNITED STATES; 1999 Sep;38(38):12514–25.
355. Heath RJ, Li J, Roland GE, Rock CO. Inhibition of the *Staphylococcus aureus* NADPH-dependent enoyl-acyl carrier protein reductase by triclosan and hexachlorophene. *J Biol Chem*. UNITED STATES; 2000 Feb;275(7):4654–9.

356. Faoagali JL, George N, Fong J, Davy J, Dowser M. Comparison of the antibacterial efficacy of 4% chlorhexidine gluconate and 1% triclosan handwash products in an acute clinical ward. *Am J Infect Control*. UNITED STATES; 1999 Aug;27(4):320–6.
357. Barry MA, Craven DE, Goularte TA, Lichtenberg DA. *Serratia marcescens* contamination of antiseptic soap containing triclosan: implications for nosocomial infection. *Infect Control*. UNITED STATES; 1984 Sep;5(9):427–30.
358. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol*. UNITED STATES; 1999 Apr;20(4):250–80.
359. OMS. Directrices de la OMS sobre higiene de manos en la atención sanitaria (borrador avanzado). 2005;41(0).
360. Boyce J.M. PD. Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2002;23(12 suppl):3–40.
361. Wolf EW, Hodge W, Spielfogel WD. Periungual bacterial flora in the human foot. *J Foot Surg* [Internet]. Jan [cited 2014 Mar 1];30(3):253–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1875000>
362. Ostrander R V, Brage ME, Botte MJ. Bacterial skin contamination after surgical preparation in foot and ankle surgery. *Clin Orthop Relat Res* [Internet]. 2003 Jan [cited 2014 Mar 1];(406):246–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12579025>
363. Ostrander R V, Botte MJ, Brage ME. Efficacy of surgical preparation solutions in foot and ankle surgery. *J Bone Joint Surg Am* [Internet]. 2005 May [cited 2014 Mar 1];87(5):980–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15866959>
364. Keblish DJ, Zurakowski D, Wilson MG, Chiodo CP. Preoperative skin preparation of the foot and ankle: bristles and alcohol are better. *J Bone Joint Surg Am* [Internet]. 2005 May [cited 2014 Mar 1];87(5):986–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15866960>
365. Ferrán Aranaz M. SPSS para Windows. Programación y Análisis Estadístico. McGraw-Hill, editor. Barcelona; 1996.
366. Da Cunha ÉR, Matos FG de OA, da Silva AM, de Araújo EAC, Ferreira KASL, Graziano KU. The efficacy of three hand asepsis techniques using chlorhexidine gluconate (CHG 2%). *Rev Esc Enferm USP* [Internet]. 2011 Dec [cited 2014 Mar 3];45(6):1440–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22241204>
367. Marena C, Lodola L, Zecca M, Bulgheroni A, Carretto E, Maserati R, et al. Assessment of handwashing practices with chemical and microbiologic methods: preliminary results from a prospective crossover study. *Am J Infect Control*. United States; 2002 Oct;30(6):334–40.

368. Zhang H, Yao M, Morrison RA, Chong S. Commonly used surfactant, Tween 80, improves absorption of P-glycoprotein substrate, digoxin, in rats. *Arch Pharm Res. Korea (South)*; 2003 Sep;26(9):768–72.
369. Becerro de Bengoa Vallejo R, Losa Iglesias ME, Alou Cervera L, Sevillano Fernández D, Prieto Prieto J. Preoperative skin and nail preparation of the foot: comparison of the efficacy of 4 different methods in reducing bacterial load. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2014 Mar 1];61(6):986–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19665260>
370. Ministério da Saúde. Lavar as mãos informações para profissionais de saúde. Brasília; 1992.
371. Barbadoro P, Martini E, Savini S, Marigliano A, Ponzio E, Prospero E, et al. In vivo comparative efficacy of three surgical hand preparation agents in reducing bacterial count. *J Hosp Infect. England*; 2014 Jan;86(1):64–7.
372. Norma Europea prEN 12054: 1995, modificada. Test de Suspensión Cuantitativa para evaluar la actividad bactericida en el área médica de productos para la higiene y desinfección quirúrgica de manos. Método de ensayo y requisitos (Fase 2 /Paso 1). 1995.
373. Tanner J, Swarbrook S, Stuart J. Surgical hand antisepsis to reduce surgical site infection. *Cochrane database Syst Rev. England*; 2008;(1):CD004288.
374. Pietsch H. Hand antiseptics: rubs versus scrubs, alcoholic solutions versus alcoholic gels. *J Hosp Infect. England*; 2001 Aug;48 Suppl A:S33–6.
375. Gupta C, Czubytyj AM, Briski LE, Malani AK. Comparison of two alcohol-based surgical scrub solutions with an iodine-based scrub brush for presurgical antiseptic effectiveness in a community hospital. *J Hosp Infect* [Internet]. 2007 Jan [cited 2014 Jun 25];65(1):65–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16979793>
376. Hajipour L, Longstaff L, Cleeve V, Brewster N, Bint D, Henman P. Hand washing rituals in trauma theatre: clean or dirty? *Ann R Coll Surg Engl. England*; 2006 Jan;88(1):13–5.
377. Suchomel M, Kundi M, Allegranzi B, Pittet D, Rotter ML. Testing of the World Health Organization-recommended formulations for surgical hand preparation and proposals for increased efficacy. *J Hosp Infect. England*; 2011 Oct;79(2):115–8.
378. Edmonds SL, Macinga DR, Mays-Suko P, Duley C, Rutter J, Jarvis WR, et al. Comparative efficacy of commercially available alcohol-based hand rubs and World Health Organization-recommended hand rubs: formulation matters. *Am J Infect Control. United States*; 2012 Aug;40(6):521–5.
379. Kampf G, Ostermeyer C. World Health Organization-recommended hand-rub formulations do not meet European efficacy requirements for surgical hand disinfection in five minutes. *J Hosp Infect. England*; 2011 Jun;78(2):123–7.

380. Widmer AF. Surgical hand hygiene: scrub or rub? *J Hosp Infect.* England; 2013 Feb;83 Suppl 1:S35–9.
381. Poon C, Morgan DJ, Pond F, Kane J, Tulloh BR. Studies of the surgical scrub. *Aust N Z J Surg.* AUSTRALIA; 1998 Jan;68(1):65–7.
382. Bryce EA, Spence D, Roberts FJ. An in-use evaluation of an alcohol-based pre-surgical hand disinfectant. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2001 Oct [cited 2014 Jun 3];22(10):635–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11776350>
383. O'Farrell DA, Kenny G, O'Sullivan M, Nicholson P, Stephens M, Hone R. Evaluation of the optimal hand-scrub duration prior to total hip arthroplasty. *J Hosp Infect.* ENGLAND; 1994 Feb;26(2):93–8.

## CUADROS

---



## Cuadro I.

### Diseño experimental básico de los métodos actuales para poner a prueba la eficacia de las formulaciones para la higiene de manos y preparación quirúrgica de manos.

Método nº	Organismo(s) de ensayo	Procedimiento básico
<b>EN 1499</b> (lavado higiénico de manos)	<i>Escherichia coli</i> (K12)	Las manos se lavan con un jabón suave, se secan y se sumergen en caldo de cultivo durante 5 s, el exceso de líquido se escurre, y se secan al aire durante 3 minutos. Para los valores iniciales, las bacterias se recuperan masajeando las yemas de los dedos de cada mano, por separado, durante 60 s, en 10 ml de caldo sin neutralizadores. Se retiran las manos del caldo y se tratan con el producto siguiendo las instrucciones del fabricante (pero no más de 1 min.) o con la solución de referencia (una solución de jabón suave al 20%). Se recuperan las bacterias para los valores finales (ver EN 1500).
<b>EN 1500</b> (fricción higiénica)	<i>Escherichia coli</i> (K12)	Procedimiento básico para la contaminación de las manos y la recuperación inicial de las bacterias de ensayo igual que en la norma EN 1499. Las manos se frotran con 3 ml. de isopropanol 60% V/V; se repite el procedimiento con un tiempo total de aplicación que no exceda de 60 s. Las yemas de los dedos de ambas manos se lavan en agua durante 5 s y el exceso de agua escurrido. Las yemas de los dedos de ambas manos se amasan por separado en 10 ml de caldo con neutralizadores agregados. Estos caldos se utilizan para obtener los valores finales (post-tratamiento). Diluciones log <sub>10</sub> de medio de recuperación que contienen neutralizador se preparan y se siembran. En el plazo de 3 h, los mismos voluntarios probaron con la formulación de referencia o con el producto a ensayo. Se calculan los recuentos de colonias obtenidas y las reducciones logarítmicas.
<b>ASTM E-1174</b> (efectividad de la formulación para el lavado de manos del personal sanitario o consumidor)	<i>Serratia marcescens</i> ; <i>Escherichia coli</i>	Para probar la eficacia de los agentes para el lavado o fricción de manos en la reducción de la flora microbiana transitoria. Antes del muestreo bacteriano basal y antes de cada lavado con el material de ensayo, se aplicaron 5 ml de una suspensión del organismo de ensayo y se frotraron las manos. El material de ensayo se pone en las manos y se extiende por las manos y 1/3 inferior de los antebrazos con espuma. Las manos y los antebrazos se aclaran con agua. Las eluciones se realizan después del número requerido de lavados usando 75 ml. de eluyente para cada mano enguantada. Los elutos se analizan para bacterias viables.

## Cuadro I.

### Diseño experimental básico de los métodos actuales para poner a prueba la eficacia de las formulaciones para la higiene de manos y preparación quirúrgica de manos (Cont).

Método nº	Organismo(s) de ensayo	Procedimiento básico
<b>ASTM E-1838</b> (método de la yema de dedo para virus)	Adenovirus, rotavirus, rinovirus y virus de la hepatitis A	10µl de la suspensión del virus de ensayo se coloca en el centro de cada yema de los dedos, el inóculo se seca y se expone durante 10-30 s a 1 ml de la formulación de control o de ensayo. Las yemas de los dedos se eluyen y los elutos ensayados para virus viables. Los controles se incluyeron para evaluar los títulos de entrada, la pérdida del inóculo en el secado y la eliminación mecánica del virus. El método es aplicable para probar agentes para el lavado y fricción de manos.
<b>ASTM E-2276</b> (método de la yema de dedo para bacterias)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia Marcescens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Similar a <b>ASTM E-1838</b>
<b>ASTM E-2011</b> (método de toda la mano para virus)	Rotavirus y rinovirus	Este método está diseñado para confirmar los resultados del método de la yema del dedo (E-1838), si fuera necesario. Ambas manos están contaminadas con el virus de ensayo y la formulación de ensayo se usa para lavar las manos o frotarlas. La superficie de toda la mano se eluye y los elutos se analizan para virus viables.
<b>prEN 12791</b> (preparación quirúrgica de manos)	Flora cutánea residente (no contaminación artificial)	Igual que para EN 1500, con las siguientes excepciones: sin contaminación artificial, antisepsia de manos de referencia frotar las manos durante 3 m con n-propanol 60 V/V, permitido más largo con el producto 5 min, una semana entre ensayo con referencia y producto. Prueba de persistencia (3 h) con el modelo de manos separadas opcional (el producto será significativamente superior a la referencia).
<b>ASTM E-1115</b> (método de ensayo para las formulaciones de cepillado quirúrgico)	Flora cutánea residente (no contaminación artificial)	El método está diseñado para evaluar la actividad inmediata o persistente contra la flora residente. Los voluntarios realizan un lavado quirúrgico simulado y las manos son muestreadas masajeándolas con un eluyente dentro de unos guantes holgado. Los elutos se prueban para bacterias viables.

Fuente: WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care (Advanced Draft)

## Cuadro II.

### Patógenos transmitidos a través del agua y su importancia en el suministro de agua.

Patógeno	Importancia para la salud	Persistencia en el suministro de agua	Infectividad relativa
<b>Bacteria</b>			
<i>Campylobacter jejuni, C. coli</i>	Alto	Moderado	Moderado
Pathogenic <i>Escherichia coli</i>	Alto	Moderado	Bajo
Enterohaemorrhagic <i>E. coli</i>	Alto	Moderado	Alto
<i>Legionella</i> spp	Alto	Se multiplica	Moderado
Non-tuberculosis mycobacteria	Moderado	Se multiplica	Bajo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alto	Puede multiplicarse	Bajo
<i>Salmonella typhi</i>	Alto	Moderado	Bajo
Other salmonellae	Alto	Corto	Bajo
<i>Shigella</i> spp.	Alto	Corto	Moderado
<i>Vibrio cholerae</i>	Alto	Corto	Bajo
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Alto	Puede multiplicarse	Bajo
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Alto	Largo	Bajo
<b>Virus</b>			
Adenovirus	Alto	Largo	Alto
Enterovirus	Alto	Largo	Alto
Hepatitis A	Alto	Largo	Alto
Hepatitis E	Alto	Largo	Alto
Norovirus y sapovirus	Alto	Largo	Alto
Rotavirus	Alto	Largo	Alto
<b>Protozoos</b>			
<i>Acanthamoeba</i> spp.	Alto	Largo	Alto
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Alto	Largo	Alto
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Alto	Largo	Alto
<i>Entamoeba histolytica</i>	Alto	Moderado	Alto
<i>Giardia lamblia</i>	Alto	Moderado	Alto
<i>Naegleria fowleri</i>	Alto	Puede multiplicarse	Alto
<i>Toxoplasma gondii</i>	Alto	Largo	Alto
<b>Helmintos</b>			
<i>Dracunculus medinensis</i>	Alto	Moderado	Alto
<i>Schistosoma</i> spp.	Alto	Corto	Alto

Fuente: WHO Guidelines for drinking-water quality, 2004.

### Cuadro III.

**Estudios que comparan la eficacia relativa (en base a las reducciones  $\log_{10}$  logradas) de jabón normal o jabones antimicrobianos, frente a antisépticos de base alcohólica en la reducción de los recuentos de bacterias viables en las manos.**

Referencia	Año	Contaminación de la piel	Método de ensayo	Tiempo (seg.)	Eficacia relativa
(297)	1965	Flora existente en la mano	Cultivo agar de punta del dedo	60	Jabón común < HCP < espuma de EA al 50%
(269)	1975	Flora existente en la mano	Caldo cultivo fricción manos	--	Jabón común < EA 95%
(257)	1978	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	30	Jabón común < CHG 4% < P-I < EA 70% = CHG alc.
(305)	1978	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	30	Jabón común < CHG 4% < EA 70%
(258)	1979	Flora existente en la mano	Caldo cultivo fricción manos	120	Jabón común < CHG 0,5% aq. < EA 70% < CHG 4% < CHG alc.
(298)	1980	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	60-120	4% CHG < P-I < IPA 60%
(133)	1980	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	15	Jabón común < HCP 3% < P-I < CHG 4% < EA 70%
(259)	1982	Contaminación artificial	Test de jugo del guante	15	P-I < CHG alc.
(260)	1983	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	120	Triclosán 0,3-2% = IPA 60% = CHG alc. < Triclosán alc.
(299)	1984	Contaminación artificial	Cultivo agar de punta del dedo	60	Fenólico < CHG 4% < P-I < EA < IPA < n-P
(300)	1985	Flora existente en la mano	Cultivo agar de punta del dedo	60	Jabón común < EA 70% > EA 95%
(261)	1986	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	60	Fenólico = P-I < CHG alc. < n-P
(270)	1986	Flora existente en la mano	Técnica de bolsa de caldo estéril	15	Jabón común < IPA < CHG 4% = IPA-H = CHG alc.
(144)	1988	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	30	Jabón común < Triclosán < P-I < IPA < CHG alc. < n-P
(107)	1991	Contacto con pacientes	Test de jugo del guante	15	Jabón común < IPA-H
(301)	1991	Flora existente en la mano	Placa de Agar/Análisis de imagen	30	Jabón común < Triclosán 1% < P-I < CHG 4% < IPA
(262)	1992	Contaminación artificial	Cultivo agar de punta del dedo	60	Jabón común < IPA < EA < CHG alc.

### Cuadro III.

**Estudios que comparan la eficacia relativa (en base a las reducciones log<sub>10</sub> logradas) de jabón normal o jabones antimicrobianos, frente a antisépticos de base alcohólica en la reducción de los recuentos de bacterias viables en las manos (cont.).**

Referencia	Año	Contaminación de la piel	Método de ensayo	Tiempo (seg.)	Eficacia relativa
(214)	1992	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	60	Jabón común < n-P 60%
(263)	1994	Flora existente en la mano	Placa de Agar/Análisis de imagen	30	Jabón común < CHG alc.
(302)	1999	Flora existente en la mano	Cultivo de placa de Agar	N.S.	Jabón común < Mezcla comercial de alcohol
(303)	1999	Contaminación artificial	Test de jugo del guante	20	Jabón común < PCMX 0,6% < EA 65%
(304)	1999	Contaminación artificial	Caldo de cultivo de punta del dedo	30	CHG 4% < Jabón común < P-I < EA 70%

Flora existente en la mano = Manos sin contaminar artificialmente con bacterias; CHG alc. = gluconato de clorhexidina solución alcohólica; CHG aq. = gluconato de clorhexidina solución acuosa; CHG 4% = detergente de gluconato de clorhexidina; AE = etanol; HCP = detergente/jabón de hexafluorofeno; IPA = isopropanol; IPA-H = isopropanol + humectantes; n-P = n-propanol; PCMX = para-cloro-meta-xilenol; P-I = jabón de povidona yodada; N.S.= no declarado  
Hexafluorofeno ha sido prohibido en todo el mundo debido a sus altas tasas de absorción dérmica y posteriores efectos tóxicos (54).

Fuente: *WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care (Advanced Draft)*.

## ANEXOS

---

## ANEXO I.

### INFORME FAVORABLE DEL CEIC DEL HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS



Hospital Clínico San Carlos



Informe Dictamen Favorable  
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. 14/197-E TFG

12 de mayo de 2014

CEIC Hospital Clínico San Carlos

#### INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Dra. Mar García Arenillas  
Secretaria del CEIC Hospital Clínico San Carlos

#### CERTIFICA

Que el Trabajo Fin de Master en Investigación en Cuidados de la Salud titulado *"Efectividad de los antisépticos cutáneos en la reducción de la carga bacteriana"* con código interno nº 14/186-E TFM del que es autora **Laura Martín Aragón** y responsable del estudio el Dr. Ricardo Becerro de Bengoa. Profesor de la Escuela Universitaria de Enfermería, Fisioterapia y Podología de la Universidad Complutense de Madrid, ha sido estudiado por este Comité, no habiéndose realizado objeción alguna al mismo.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho Trabajo de Fin de Master.

Lo que firmo en Madrid, a 26 de mayo de 2014

Dra. Mar García Arenillas  
Secretaria del CEIC Hospital Clínico San Carlos

## ANEXO II.

### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO



Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología  
Universidad Complutense de Madrid

#### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: Efectividad de los antisépticos cutáneos en la reducción de la carga bacteriana.

Yo, D./D<sup>a</sup>. (nombre y apellidos)....., mayor de edad, con  
fecha de nacimiento ..... y DNI nº .....

Nos dirigimos a usted para informarle sobre el desarrollo del estudio en el que se le propone participar. Estamos realizando un estudio cuya finalidad es obtener datos de la cantidad de bacterias o carga bacteriana que queda en la piel de las manos tras el lavado de las mismas con diferentes productos antisépticos o jabones desinfectantes que actualmente se comercializan y se usan en la actividad normal, por lo que son totalmente seguros. Para ello, necesitamos recoger mediante inmersión en placa de Petri y mediante hisopo, muestras de las bacterias que hay en la superficie de la piel de sus manos, antes y después de lavarse las manos con un antiséptico o jabón desinfectante. Transcurrida una semana se le volverá a pedir que repita el mismo proceso de lavado de manos pero usando otro jabón desinfectante. El objetivo es conocer cuál de los dos jabones desinfectantes es el que elimina la mayor cantidad los gérmenes de la mano para poder conocer cuál es el que mejor desinfecta las manos. El procedimiento es indoloro y no conlleva riesgo de ningún tipo.

Todos los datos recogidos para el estudio, serán tratados con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal. Debe saber que tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de los mismos en cualquier momento.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo el investigador principal podrá relacionar dichos datos con usted.

- ☐ he leído la hoja de información que se me ha entregado.
- ☐ he recibido suficiente información sobre el estudio.
- ☐ he podido aclarar mis dudas y hacer preguntas sobre el estudio.

He comprendido que mi participación es completamente voluntaria y que puedo retirarme del estudio:

- ☐ cuando quiera.
- ☐ sin tener que dar explicaciones.
- ☐ sin que esta decisión produzca ningún perjuicio sobre mi salud.

Acepto participar, libre y voluntariamente en este estudio.

Acepto que unas muestras tomadas de la superficie de la piel de mis manos sean analizadas para el estudio de la carga bacteriana tras el lavado de manos con soluciones antisépticas.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

En, ..... a ..... de ..... de 20 ..

Firma del usuario:

Firma del investigador:  
(D<sup>a</sup> Laura Martín Aragón. Tfno.: 679.342.530)

Firma del testigo cuando el consentimiento informado sea dado oralmente

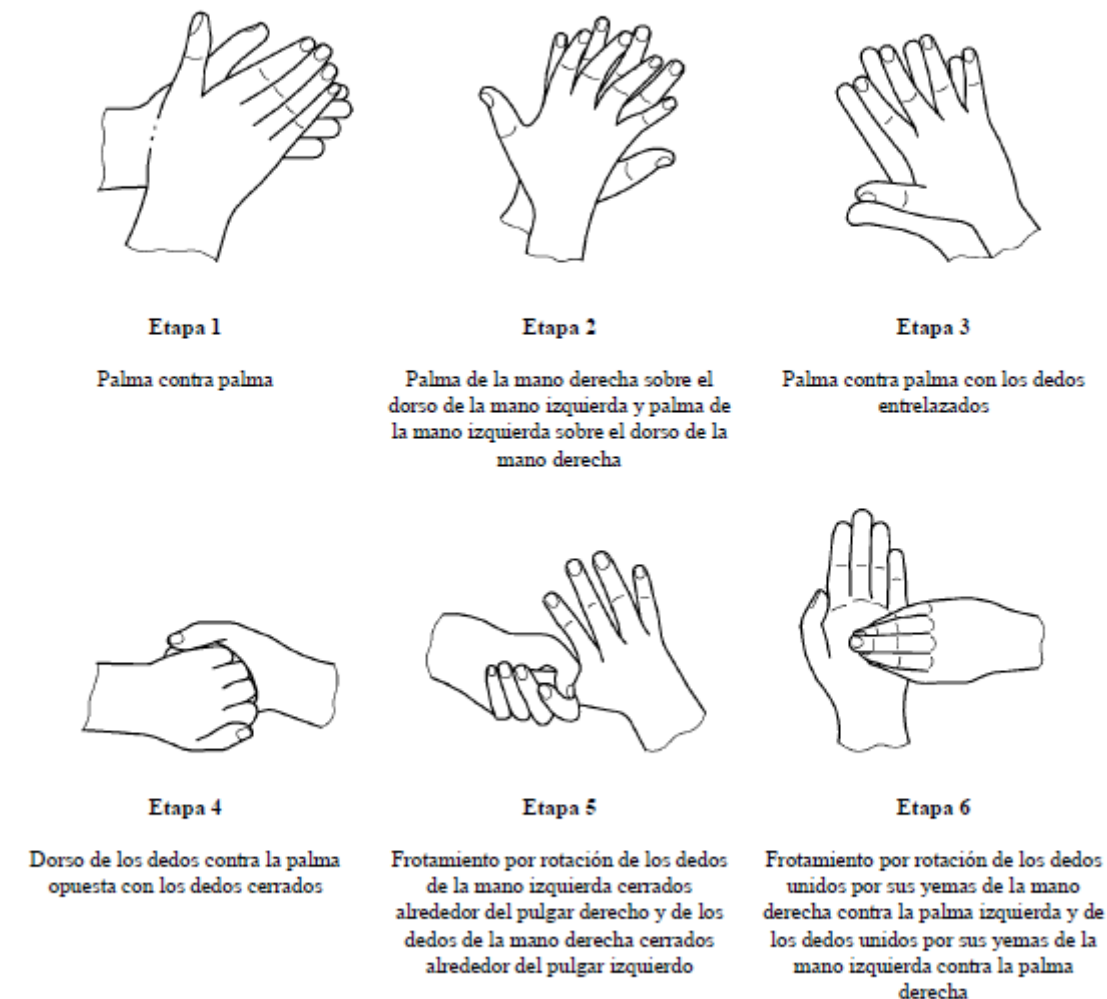


## ANEXO III.

### PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DEL LAVADO DE LAS MANOS/FROTADO DE MANOS (NORMA UNE-EN 12791)

**Formulaciones acuosas:** Se mojan ambas manos y muñecas, se aplican 3 ml de la formulación o volumen de referencia indicado por el fabricante del producto objeto del ensayo en la concavidad formada entre las manos, y se lavan las mismas de acuerdo con el procedimiento siguiente, cada etapa consistiendo en cinco frotamientos en ambos sentidos del movimiento descrito:

**Formulaciones alcohólicas:** Se aplican 3 ml de la formulación o volumen de referencia indicado por el fabricante del producto objeto del ensayo en la concavidad formada entre las manos, y se frota utilizando también el procedimiento siguiente:



Continuar lavando o frotando las manos y muñecas hasta que el tiempo de aplicación haya transcurrido. En el caso de formulaciones acuosas, lavar las manos y secarlas a fondo.

Fig. A.1 – Procedimiento normalizado del lavado de las manos/frotado de las manos



**Facultad de Enfermería,  
Fisioterapia y Podología**  
Universidad Complutense de Madrid